



Dipeptidil Peptidaz- 4 Enzimine Biyokimyasal Yaklaşım Biochemical Approach to Dipeptidyl Peptidase-4 Enzyme

Hülya Leventerler¹ , İbrahim Ferhat Ürünsak¹ , Nurten Dikmen² 

¹Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezi, ²Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Adana, Turkey

ABSTRACT

Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4, EC 3.4. 14.5) is a member of protease family. DPP-4, also known as adenosine deaminase binding protein (ADBP) or T-cell activation antigen CD26. DPP-4 is a serine exopeptidase, it cleaves dipeptides from the N-termini of oligopeptides and smaller peptides with proline, hydroxyproline, dehydroproline or alanine. The enzyme is found in two forms in blood, free and bound.

Due to its ubiquitous distribution and involvement in various physiological processes, a great number of pathological conditions are associated with altered DPP-4 expression or activity. These pathological conditions are: diabetes, psychoneuroendocrine disorders, autoimmune and inflammatory diseases, infectious diseases, haematological malignancies, solid tumors. The altered CD26 / DPP-4 activity or concentrations in plasma are related to various physiological and autoimmune pathological conditions. DPP-4 activity is detected in saliva, cerebrospinal fluid, synovial fluid, follicular fluid, seminal fluid and urine.

Keywords: Dipeptidyl peptidase-4, adenosine deaminase binding protein, CD26 antigen

ÖZET

Dipeptidil peptidaz- 4 (DPP-4, EC 3.4. 14.5), proteaz ailesinin bir üyesidir. DPP-4 aynı zamanda adozin deaminaz bağlayan protein (ADBP) ya da T-hücre aktivasyon antijeni CD26 olarak da bilinmektedir. Bir serin ekzopeptidaz olan DPP-4; bir proteinin N-terminal dipeptidin en sonunda yer alan prolin, hidroksiprolin, dehidroprolin ya da alanin ayrılmasını katalizlemektedir. Enzim kanda, serbest ve bağlı olmak üzere iki formda bulunmaktadır.

DPP-4'ün pek çok dokudaki yaygın dağılımı ve fizyolojik olaylarda rol almasına bağlı olarak çeşitli patolojik durumlarda da DPP-4 ekspresyonunda ya da aktivitesinde değişiklikler saptanmıştır. Bu patolojik durumlar: diyabet, psiko-nöroendokrin bozukluklar, otoimmün ve inflamatuvar hastalıklar, enfeksiyon hastalıkları, hematolojik malignansiler, solid tümörlerdir. Plazmada değişen CD26/DPP-4 aktivitesi ya da derişimleri fizyolojik ve otoimmün çeşitli patolojik durumlarla ilgili bulunmuştur. Ayrıca tükürük, serebrospinal, sinoviyal sıvılar, folikül sıvısı, semen ve idrarda da DPP-4 aktivitesi bildirilmiştir.

Anahtar kelimeler: Dipeptidil peptidaz-4, adozin deaminaz bağlayan protein, CD26 antijeni.

Giriş

Proteaz ailesinin bir üyesi olan dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4, EC 3.4. 14.5), adozin deaminaz bağlayan protein (ADBP) ya da T-hücre aktivasyon antijeni CD26 olarak da bilinmektedir. Enzim kanda, serbest ve bağlı olmak üzere iki formda bulunmaktadır. DPP-4 geni 2q23 kromozomu üzerine yerleşmiştir; 70 kb'lık bölgeyi kapsar. DPP-4 dimerik formda immün (olgun timositler, aktif T-hücreler, B hücreler, NK hücreleri ve makrofajlar) ve non-immün (böbrek, prostat, karaciğer, ince barsak epiteli, akciğer, adrenal bezi, jejunum, dalak ve testis) hücrelerinde eksprese edilir^{1,2}.

DPP-4 pek çok dokuda yaygın dağılım göstermekte ve fizyolojik olaylarda rol oynamaktadır. Ayrıca tükürük, serebrospinal, sinoviyal sıvılar, folikül sıvısı, semen ve idrarda da DPP-4 aktivitesi bildirilmiştir^{3,4,5}. DPP-4'ün çeşitli biyolojik aktiviteleri birçok hastalıkla ilişkilendirilmesine neden olmuştur. Örneğin, DPP-4 peptidaz aktivitesi ile glukoz metabolizması, barsak hareketliliği, iştah düzenlenmesi, inflamasyon, immün sistem fonksiyonları ve ağrı düzenlenmesi üzerinde pleiotropik etkiler sağlamaktadır. Böylece başta diyabet olmak üzere pek çok hastalığın tedavisiyle ilişkisi bulunmaktadır. Bunlara ek olarak immün uyarılarda, ekstraselüler matris yıkım olaylarında, anti-kanser ajanlara direnç ve lipid birikimi olaylarında ilgili olduğu açıklanmıştır³. DPP-4'ün dokularda ve vücut sıvılarında yoğun dağılım göstermesi, metabolik olaylar



üzerinde etkili olup aktivite değişimlerinin bazı hastalıklarda patolojik değerleri işaret etmesi bu enzimin daha kapsamlı araştırılıp incelenmesi yolunda dikkatimizi çekmiştir.

Bu araştırmada amacımız, DPP-4'ün pek çok fizyolojik olayda rol oynaması ve birçok hastalıkla ilişkilendirilmesi konusunda önemini vurgulamak ve ileride planlanması düşünülen çalışmalarda destekleyici bir belirteç olarak kullanılabileceği hususunda bir veri oluşturmaktır.

Dipeptidil peptidaz- 4'ün Yapısı ve Genel Özellikleri

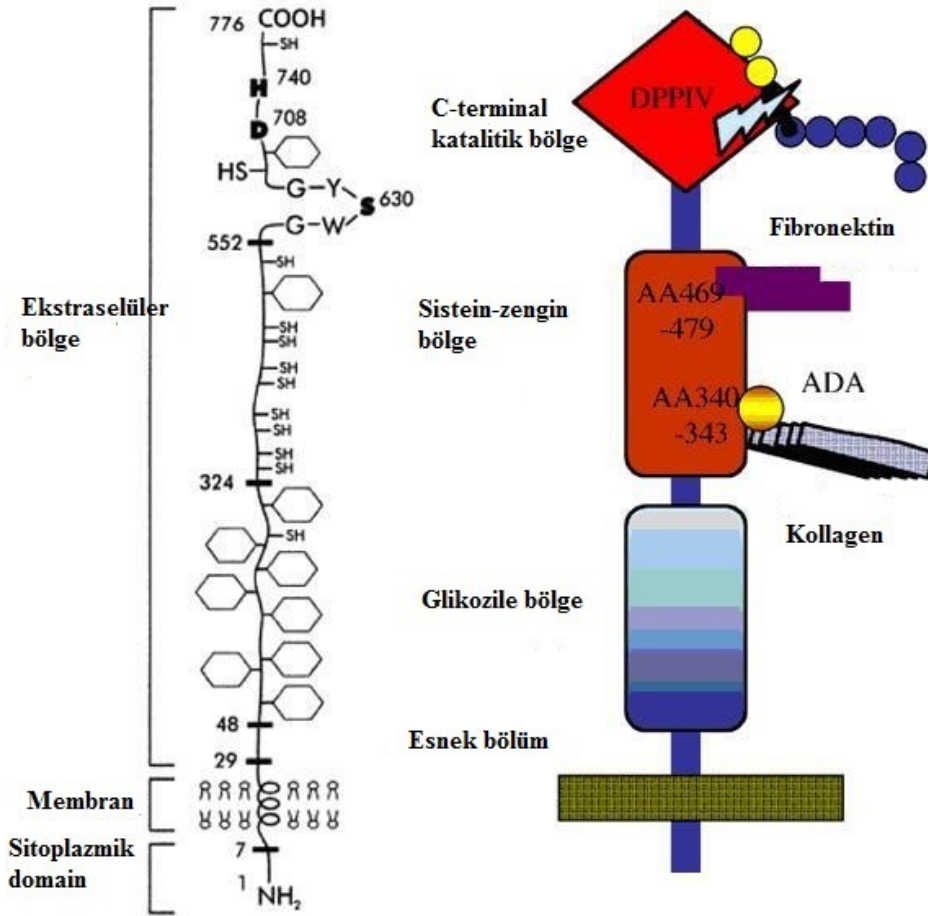
Dipeptidil peptidaz 4 (DPP-4), proteaz ailesinin bir üyesidir. Yüksek organizmalara özgü 10 proteaz ailesi mevcuttur. Bunlardan serin proteazlar 43 gruba ayrılmış olup S9 ailesi 4 alt gruba ayrılmıştır: S9A (propil oligopeptidaz tip), S9B (DPP4), S9C (asilaminoasil-peptidaz), ve S9D (glutamil endopeptidaz). İnsanlarda S9B alt grubu ise DPP-4, fibroblast aktivasyon protein-alfa (FAP α), dipeptidil peptidaz- γ (DPP8), ve dipeptidil peptidaz-9 (DPP9) 'dan oluşmuştur^{1,2,3,4}.

50 yıl önce tanımlanmış bir lenfosit hücre transmembran proteini ve T hücre aktivasyon antijeni olan CD26, dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4, EC 3.4. 14.5) aktivitesine sahiptir. DPP-4 olarak da isimlendirilen bu transmembran glikoprotein, S9B serin peptidaz protein ailesi üyesidir. DPP-4 aktivitesi (glisil-prolil-beta naftilamid hidroliz eden dipeptit naftilamidaz) ilk kez 1966 yılında Hopsu-Havu ve Glenner tarafından insan karaciğerinde tanımlanmıştır^{1,2,3,4}. İki yıl sonra Nagatsu ve arkadaşları insan serumunda DPP-4 aktivitesini göstermişlerdir. 1984 yılında Fox ve arkadaşları bu proteini lökosit antijeni olarak ifade etmişlerdir². 1993'de bu adenozin deaminaz bağlayan proteinin CD26'ya identik olduğu tesbit edilmiştir¹. Daha sonra yüksek derişimde DPP-4 aktivitesi serebrospinal, sinoviyal sıvılar, tükürük, semen ve idrarda bildirilmiştir^{2,5}. Serum DPP-4 aktivitesinin, baskın oranda (~%90) CD26 eksprese eden hücrelerin membranından ayrılan, çözünür formdaki CD26 proteini içeren kan örneklerinde ölçüldüğü kabul edilmiştir. Buna ek olarak dolaşımdaki bazı proteinlerin de DPP-4 aktivitesinin açığa çıkmasını sağladığı gösterilmiştir². Ayrıca serumdaki DPP-4 aktivitesinin, proteinin sialilasyon derecesi ya da proteinin, atraktin ile interaksiyonu sonucunda düzenlendiği yolunda bulgular mevcuttur. Bu durum, çözünür formda CD26 konsantrasyonu ve enzim aktivitesi arasında direk bir korelasyon yokluğuyla sonuçlanabilir².

DPP-4 aynı zamanda adenozin deaminaz bağlayan protein (ADBP) ya da T-hücre aktivasyon antijeni CD26 olarak da bilinmektedir. Bir serin ekzopeptidaz olan DPP-4; N-terminal dipeptitin en sonunda yer alan prolin, hidroksprolin, dehidroprolin ya da alanin ayrılmasını katalizlemektedir. Sadece trans konformasyonunda bulunan oligopeptidler DPP-4'ün aktif bölgesine bağlanabilmektedir. Evrimsel olarak korunmuş olan DPP-4, prokaryot ve ökaryotları içeren çeşitli organizmalarda bulunmaktadır. İnsan CD26 proteinini sentezleyen gen dizilimi, fare ve sıçan CD26 geni ile %85 ve D. melanogaster ile %37 identiktir^{6,7}.

DPP-4 geni 2q23 kromozomu üzerine yerleşmiştir 70 kb'ı kapsar, 766 amino asit içeren bir proteini kodlar ve 26 ekzondan oluşmuştur. DPP-4 dimerik formda immün (olgun timositler, aktif T-hücreler, B hücreler, NK hücreleri ve makrofajlar) ve non-immün (renal, prostat, karaciğer, ince barsak epiteli, böbrek, akciğer, adrenal bezi, jejunum, dalak ve testis) hücrelerinde eksprese edilmiştir^{2,3,6}. İnsanda iki CD26 transkripti (4.2 ve 2.8 kb) bulunmuştur. Her iki transkript, plasenta ve böbrekte yüksek düzeylerde, karaciğer ve akciğerlerde orta düzeyde sentezlenirken iskelet kası, kalp, beyin ve pankreasta 4.2 kb mRNA düşük düzeylerde eksprese edilmektedir¹.

Homodimer ve integral tip II glikoprotein olan CD26/DPP-4, sinyal peptidi ile membrana bağlanmıştır. Primer yapısı; 6 amino asitten oluşan kısa sitoplazmik kuyruk, 22 amino asit içeren transmembran bölge ile 738 amino asitten oluşan esnek bir gövdeye sahip ekstraselüler bölgedir. Bu bölge glikolizasyon yönünden zengin bölge, sistein içeriği zengin bölge ile Ser₆₃₀, Asp₇₀₈ ve His₇₄₀'den oluşan katalitik üçlüden oluşmaktadır. Son yapılan çalışmalarda transmembran bölgenin, enzim aktivitesi ve dimerizasyon ile kuaterner yapıya katıldığı açıklanmıştır. İnsan CD26/DPP-4'ün kristal yapısının iki bölgesi aydınlatılmıştır: sekiz blade propeller ve α/β hidrolaz bölge. Propeller kısım, açık 2 alt bölgeden oluşur: blade ise II-V ve VI-VIII glikolizasyon yönünden ve sistein içeriği zengin olan bölgelerdir^{1,6}.



Şekil 1. CD26/DPP-4'ün şematik gösterimi

Pek çok monoklonal anti-CD26/DPP-4 antikoru, (adenozin deaminaz (ADA) ve kaveolin-1 gibi) insan CD26/DPP-4'ün glikolizasyon yönünden zengin olan alanına bağlanırlar. İki tane açılma bölgesi vardır: yan açılma ve pervane tüneli. DPP-4 substratı olan nöropeptit Y (NPY) yan açılma bölgesinden DPP-4'e bağlantı yapar^{1,6}.

I. DPP-4'ün Biyolojik Aktiviteleri

1. Peptidaz Aktivitesi

DPP-4, inkretinler, iştah baskılayan hormonlar (nöropeptit) ve kimokin grubu peptitlerin (Tablo 1), N-terminal dipeptitlerinden prolin ya da alanin ayıran bir enzimdir. Saptanan en önemli hedefler; glukagon benzer peptit (GLP)-1, GLP2, peptit YY, kemokin ligand 12 (stromal derive faktör 1) (CXCL12/SDF-1) ve P maddesi olarak sayılabilir. Böylece DPP-4 peptidaz aktivitesi ile glukoz metabolizması, barsak hareketliliği, iştah düzenlenmesi, inflamasyon, immün sistem fonksiyonları ve ağrı düzenlenmesi üzerinde pleiotropik etkiler sağlar^{3,8}.

2. İmmün Stimülasyonda Etkinlik

T-hücrelerinin dinlenme durumunda DPP-4 ekspresyonunun down regülasyonu gerçekleşir. Fakat interlekin-12 bağımlı mekanizmalara bağlı olarak antijenik ya da mitojenik stimülasyonla ekspresyon upregüle edilir. DPP-4, p56^{lck}, fosfolipaz C- γ ve mitojen aktive eden protein kinaz (MAPK) gibi intraselüler molekülleri aktive eder. Bu aktivasyon T-hücre matürasyonu ve migrasyonu, sitokin salınımı, antikor üretimi, B hücrelerinin immünglobulin izotip değişimini ve sitotoksik T hücrelerinin aktivasyonunu hızlandırır.

Ayrıca çözümlü formdaki CD26, mannoz 6-fosfat reseptörüne bağlanır ve CD14 pozitif monositler tarafından tutulur, onların antijen sunma aktivitesini ve T-hücre proliferasyonunu artırır^{3,9}.

3. Ekstraselüler Matrikse Bağlanma

DPP-4 ekstraselüler matrikse, özellikle kollajen I, III ve fibronektine bağlanma yeteneğine sahiptir, hepatosit ekstraselüler matriks interaksyonlarında görev alır. DPP-4'ün varsayılan kollajen bağlanma bölgesi molekülün C-terminal bölümüne yerleşmiştir (peptidaz katalitik bölgeden ayrı olarak)^{3,10}.

Fare ksenograft modelinde anti-DPP-4 monoklonal antikor ile muamele, ekstraselüler matriksle bağlantıyı bozarak renal hücre karsinom gelişimini inhibe etmektedir. Ayrıca DPP-4'ün yüksek düzeydeki ekspresyonunun prostat kanser hücrelerinin apoptozisini indüklediği gösterilmiştir. Bu olay; mitojen aktive protein kinaz (MAPK)-ekstraselüler sinyal regülasyonlu kinaz-1/2 aktivasyonunun down-regülasyonu ile hücre hareketinin ve invazyonun inhibe edilmesine bağlı olarak gerçekleşmektedir. DPP-4'ün farklı kanser türlerindeki işlevi farklılıklar gösterebilmektedir^{3,11}.

4. Ekstraselüler Matriksin Yıkımı

DPP-4, adozin deaminaza bağlanır, plazminojen-2'yi aktive ederek plazmin düzeylerinde artışa neden olur. Artan plazmin düzeyi; tip IV kollajen, fibronektin, laminin ve proteoglikanların yıkımına yol açar ve matriks metalloproteinazlar aktive edilirler. Bu değişiklikler ekstraselüler matriksin yıkımı ile sonuçlanır^{3,12}.

5. Anti-kanser Ajanlar Üzerine Etkisi

DPP-4'ün hematolojik malignansilerde, anti-kanser ajanlara duyarlı olduğu düşünülmektedir. DPP-4, yüksek topoizomaz II α düzeyleri ile ilişkili olup bu durum T-hücre lenfomalarının malignant potansiyeli ve anti-kanser ajanlara direnç ile bağlantılıdır. Anti-DPP-4-monoklonal antikor ile yapılan muamele, T-hücre lenfomada MAPK ve integrin $\beta 1$ 'in defosforilasyonuna neden olarak, anti-kanser ajanlara olan hassasiyet ve sağkalım oranını artırır. Anti-DPP-4 monoklonal antikorların renal hücre karsinomunda ve malignant mezotelyoma tümörlerde, benzer yararlı etkileri bildirilmiştir^{3,13}.

6. Lipit Birikimi Üzerine Etkisi

DPP-4; GLP-1, nöropeptit Y ve peptit YY gibi peptitleri inaktive ederek lipit metabolizmasını etkiler. Ayrıca DPP-4'ün lipit metabolizmasını direkt olarak etkilediği de bilinmektedir. DPP-4'ü kodlayan genin knock-out durumu; peroksizom proliferatör-aktive reseptör- α (PPAR- α) yolağının direkt olarak aktivasyonuna, sterol regülatör element bağlayan protein-1 (SREBP-1) yolağının inaktivasyonuna neden olarak lipit oksidasyonu artırılır, lipogenez azalır, yüksek yağ içerikli diyetin neden olduğu hepatik steatozis önlenir^{3,14}.

II. Patolojide CD26/DPP-4

DPP-4'ün pek çok dokudaki yaygın dağılımı ve fizyolojik olaylarda rol almasına bağlı olarak çeşitli patolojik durumlarda da DPP-4 ekspresyonunda değişiklikler saptanmıştır. Bu patolojik durumlar en az 5 grup altında incelenebilir: psiko-nöroendokrin bozukluklar, otoimmün ve inflamatuvar hastalıklar, enfeksiyon hastalıkları, hematolojik malignansiler, solid tümörler. Mevcut bilgilere göre DPP-4 ekspresyonu ya da aktivitesi klinik biyokimyada rutin olarak tanı amaçlı kullanılmamaktadır. Fakat serumda değişen CD26/DPP-4 aktivitesi ya da konsantrasyonları fizyolojik ve otoimmün çeşitli patolojik durumlarla ilgili bulunmuştur^{1,15}.

1. Astım

En yaygın hastalıklardan biri olan allerjik astım, son iki yüzyıldır gelişmiş ülkelerde dramatik olarak artış göstermiştir. CD26/DPP-4'ün bronşlarda ekspresyonu ilk olarak van der Velden ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir. Astım hastalarının kan ve T hücre örneklerinde CD26/DPP-4'ün çözümlü formunun ekspresyonu artmıştır^{1,16,17}.

2. Multipl Skleroz

Multipl Skleroz (MS) ve hayvan modeli olan deneysel otoimmün ensefalomyelitis, merkezi sinir sistemini etkileyen inflamatuvar otoimmün hastalıklardır. MS hastalarında, hastalığın aktivitesine bağlı olarak CD26+ T hücre sayısında artış, CD26/DPP-4 ekspresyon düzeylerinde yükselme gözlenmiştir^{1,18}.

3. Romatoid Artrit

Romatoid artrit, eklem kıkırdağının harabiyeti ile karakterize olan kronik, sistemik inflamatuvar bir hastalıktır. Çeşitli çalışmalarda bu hastalığa sahip kişilerde DPP-4 aktivite düzeylerinin düştüğü gösterilmiştir. Romatoid artritte, serum DPP-4 aktivitesinin düşüklüğüne sebep olarak hipersializasyon ve DPP-4 otoantikorları gösterilmiştir^{1,19,20}.

Tablo 1. DPP-4'ün Etkilediği Peptitler³

Etki	Peptit
Glukoz metabolizması	GLP-1 GIP Glukagon PACAP-38 (hipofiz adenilat siklaz aktive eden peptit-38)
Barsak hareketliliği	GLP-2 VIP NPY GRP Peptit histidin metyonin
İştah düzenlemesi Kemokinler	Peptit YY CCL5/RANTES CCL11/eotaks CCL22/MDC CXCL9/Mlg CXCL10/IP10 CXCL11/I-TAC CXCL12/SDF-1
Büyüme	IGF-1
Üreme	GHRH Prolaktin
Vazodilatasyon ilişkili peptit)	hCG α LH α CGRP (Kalsitonin gen
Ağrı düzenlemesi	Bradikinin Enkefalin
Homeostazis Endotel hücre büyümesinin inhibisyonu	Endomorfınler P maddesi Tirotropin α Vazostatin 1

4. İnflamatuvar Barsak Hastalığı (IBD)

Crohn hastalığı ve ülseratif kolit gibi iki önemli formu bulunan IBD, gastrointestinal kanalda kronik, progresif inflamatuvar olaylarla karakterizedir. IBD hastalarının T hücreleri yüksek düzeylerde CD26/DPP-4 ekspresyonu ile karakterize olup dolaşımdaki serbest CD26/DPP-4 düzeyleri düşüktür^{1,21}.

5. Kanser Türlerinde DPP-4

a) Yetişkin T-hücre lösemi/lenfoması

Yetişkin T-hücre lösemi/lenfoması (YTLL) ile ilgili olarak yapılan insan T-lenfotropik virüs 1 (İTLV-1) çalışmaları sonucunda periferik kan mononükleer hücrelerde yüzey CD26 ekspresyonunda azalma tesbit edilmiştir^{5,22}.

b) Non-Hodgkin lenfoma

Non-Hodgkin lenfoma (NHL)'da CD26 ekspresyonu; özellikle T-lenfoblastik lenfoma (LBL)/T-akut lenfoblastik lösemi (ALL) ve T-hücre CD30+ anaplastik büyük hücre lenfoması (ALCL) gibi agresif altgruplarda bulunmaktadır. T-hücre LBL/ALL'de CD26 ekspresyonu daha kötü sağkalım ile ilgili bulunmuştur. T-ALL hastalarının büyük çoğunluğu lösemik hücre yüzeyinde CD26 eksprese etmektedir ^{5,23}.

c) Sezary sendromu/mikozis fungoides

Mikozis fungoides (MF) ve Sezary sendromu (SS) gibi diğer T-hücre lenfomalarında CD26 ekspresyonu ya yoktur ya da çok zayıftır. SS, kan ve deride görülen Kutanöz T Hücreli Lenfoma (KTHL)'nın bir formudur. CD26'nın kaybı KTHL'nin karakteristik özelliği olmakla beraber faydalı bir diagnostik belirteç olduğu düşünülmektedir. Kimokinler ve onların reseptörleri non-Hodgkin T-hücre lenfomalar gibi kanser hücrelerinin dokulara yerleşmesinde rol oynamaktadır ^{5,24}.

d) T-büyük granüler lenfosit lenfoproliferatif bozukluk

CD26 ekspresyonu, T-hücre büyük granüler lenfosit lösemide (T-LGLL), daha agresif klinik görünüm ile ilgilidir. T-LGLL hastaları, T-LGLL hücrelerinde düşük CD26 ekspresyonu ile daha hafif bir klinik tabloya sahip olurken, yüksek ekspresyon görülen hastalarda nötropeniye bağlı tekrarlayan enfeksiyonlar gelişmektedir. LGLL hastaları sıklıkla otoimmün hastalıklara sahiptir ^{5,25}.

e) Meme Kanseri

Cheng ve ark. CD26'nın, sıçanda meme kanseri hücreleri metastazının akciğer kapiller endotelinde ekspresyonunu fibronektin ile ilişkili bulmuşlardır. Fischer 344/CRJ sıçanlarda, CD26 Gly633Arg değişimi ile yaptıkları çalışmada mutant proteinin endoplazmik retikulumda tutularak yıkıma uğrattırılıp "protein knock-out" modeli oluşturularak CD26'nın metastazdaki rolü karakterize edilmiştir. Yüksek düzeyde metastaza uğramış MTF7 sıçanda meme kanseri hücre dizilimlerinin, Fischer 344 sıçanlara oranla %33 azaldığını bulmuşlardır. Detaylı immünohistokimyasal deneyler sonucunda akciğer endotel hücrelerinde düşük düzeylerinde mutant enzimatik inaktif CD26 açığa çıkmıştır. Mutant CD26 saflaştırıldığında wild tip DPP-4 gibi meme kanseri hücreleri için identik adhezyon nitelikleri tesbit edilmiştir. Fibronektinin kanser hücreleri tarafından kullanımı ve fibronektinin kandaki etkileşimi CD26/fibronektin bağlanmasının akciğer metastazı için bir mekanizma olabileceğini açıklamaktadır ^{5,26}.

f) Kolon Kanseri

CD26, belirgin kanser türlerinde hücre yüzeyinde tesbit edilmiş olup düzeyi, hastalığın durumu ve tümör biyolojisi ile korelasyon göstermiştir. Kolorektal kanserde, serumda çözünür CD26 (sCD26), kolon kanserinin derecesi, evresi ya da lokasyonu ile ilişkili bulunmamıştır. Cordero ve ark. sCD26 konsantrasyonunu, kolorektal kanser hastalarının serumunda sağlıklı kişilerle karşılaştırıldığında daha düşük düzeyde tesbit etmişlerdir. Bu durumda sCD26 immünokimyasal tanıma testinin erken teşhis için potansiyel olarak kullanılabileceğini açıklamışlardır ^{5,27}.

g) Akciğer Kanseri

CD26, akciğer adenokarsinomada eksprese edilmiş fakat akciğer kanserinin diğer alt tiplerinde görülmemiştir. CD26 ekspresyonu ve DPP-4 aktivitesi, normal bronşial ve alveolar epitelde bulunmakta olup, non adenokarsinom akciğer kanserleri, CD26 ekspresyonunu kaybetmektedir. CD26 downregülasyonu, non-small hücre akciğer karsinoma hücrelerde, gelişim kontrolünün kaybına katılabilmektedir ^{5,28}.

h) Hepatoselüler Karsinoma

Sirozda ve steatotik karaciğerde olduğu gibi normal karaciğerde de CD26, hepatoselüler membranların safra kanalikular bölgelerinde eksprese edilmektedir. Hepatoselüler karsinomada (HCC), CD26/DPP-4 aktivitesi (2/25 vakada) kaybedilmiş ya da (23/25 vakada) dağılım değişmiştir. Gaetaniello ve arkadaşları HCC hücre dizilimlerinde CD26'ya antikör bağlanmasından sonra çeşitli proteinlerde Tyr fosforilasyonu tesbit etmişlerdir. Bu etki CD45 Tyr fosfataz ile inhibe edilmiştir. CD26 ile etkileşime giren, kinaz aktivitesine

sahip protein ya da proteinlerin olduğu açıklanmıştır. Jurkat T-hücrelerinde, CD26 apoptozise karşı koruyucudur fakat insan hepatoma PLC/PLF/5 hücrelerinde CD26 antikor bağlanması pro-apoptotiktir. HepG2 hücrelerinde CD26 ekspresyonu pro-apoptotiktir ^{5,29}.

i) Gliomalar

Ağır seyirli gliomalarda düşük CD26/DPP-4 aktivitesi; iyi seyirli gliomalarda yüksek aktivite saptanmıştır. İyi seyirli gliomalar yüksek düzeyde, membranla etkileşimli CD26/DPP-4 izoformlara sahiptir. Sedo ve arkadaşları değişik düzeylerdeki 5 glioma hücre dizilimlerinde DPP-4 aktivitesi ya da yapısal homologlarını çalışmışlardır. Orijinal donör tümör ya da morfolojik fenotipi arasında malignansi derecesi bakımından hiçbir korelasyon olmadığını açıklamışlardır ^{5,30}.

i) Prostat Kanseri

CD26/DPP-4 biyokimyasal aktivitesi, prostat kanserinde benign prostat hiperplazi (BPH) dokuları ile karşılaştırıldığında 2 kat yüksek bulunmuştur. DPP-4 aktivitesi, epitelium dokularında bulunmakta fakat stromal olmayan BPH ve kanser dokularında bulunmamaktadır. Bu durum, prostat kanser hücreleri tarafından üretilen parakrin faktörlerin, kanser gelişimini artırmak için lokal mikroçevreyi düzenleyebildiğini düşündürmektedir ^{5,31}.

j) Renal Kanseri

CD26 ekspresyonu, önemi açıklanmamakla beraber renal hücre karsinomada daha önce tanımlanmıştır. CD26 renal karsinom hücre dizilimlerinde (Caki-1, Caki-2, VRMRC-RCW ve ACHN) yüksek düzeyde yüzey ekspresyonu göstermiştir ⁵.

k) Tiroid Kanseri

Benign tiroit doku genellikle CD26 ekspresyonu için negatif olmakla beraber tiroit kanserinde CD26 ekspresyonu gözlenmiştir. Bu farklılık, benign tiroit hastalığı ve tiroit kanserinin teşhisinde diagnostik belirteç olarak kullanılabilir ^{5,32}.

l) Melanoma

CD26 normal melanositlerde yüksek düzeyde eksprese edilmiş fakat melanom hücrelerinde malignant transformasyona bağlı olarak CD26 ekspresyonu kaybedilmiştir. CD26 kaybı, spesifik kromozomal anomali gelişimiyle ilişkili bulunmuştur ^{5,33}.

m) Over Kanseri

CD26 ekspresyonu, over kanser hücre dizilimlerinde değişkenlik göstermektedir. CD26 over kanser invaziv potansiyeli ile negatif korelasyon göstermektedir ^{5,34}.

n) Malignant mezotelioma

Malignant plevral mezotelioma, plevrayı saran mezotel hücrelerden açığa çıkan agresif bir kanserdir. Morimoto ve ark. CD26'nın malignant mezotel hücrelerde eksprese edildiğini fakat normal mezotel hücrelerde eksprese edilmediğini açıklamışlardır ⁵.

o) Gastrointestinal stromal tümörler

152 gastrik gastrointestinal stromal tümöre sahip hastanın immünohistokimyasal analizinde, CD26 ekspresyonu zayıf sağkalım ile ilişkili bulunmuştur ⁵.

III. DPP-4 İnhibitörlerinin Etki Mekanizması

Ubiquitous multifonksiyonel bir glikoprotein yapıda proteaz olan DPP-4; metabolizma, immünoloji ve beslenmede önemli roller oynamaktadır. DPP-4'nin doğal ligandları adenozin deaminaz, renal Na⁺/H⁺ countertransport proteini ve fibronektindir. DPP-4 bazı enterohormonları parçalamaktadır; glukagon-benzer peptit (GLP)-1 ve glukoz insülinotropik peptit (GIP) aynı zamanda inkretinler olarak da bilinirler. Inkretinler insülin sekresyonunu stimüle ederken glukagon sekresyonunu inhibe etmektedir. Spesifik DPP-4 inhibitörleri, inkretin yıkımını önlemek için kullanılabilir; bu proteazın inhibisyonu GLP-1 yıkımını

önlendirmekte, bu entero-hormonun biyolojik aktivitesini sürdürmesine izin vermekte, glukoz-bağımlı insülin sekresyonu hızlanmakta, glukagon sekresyonu inhibe edilmekte ve gastrik boşalma yavaşlamaktadır. Marguet ve arkadaşları DPP-4'ün glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde önemli rolü olduğunu vurgulamış, oral glukoz yüklemesinden sonra CD26 knock-out farelerde glukoz-bağımlı insülin düzeyinin arttığını açıklamışlardır. DPP-4 inhibitörleri, vücut ağırlığında progresif fakat hafif bir düşmeye neden olarak glikozile hemoglobin düzeyini % 0.5-0.9 oranında azaltmaktadır. Pekçok ülkede kullanılmakta olan DPP-4 inhibitörleri mevcuttur: Sitagliptin, vildagliptin, saxagliptin, linagliptin, alogliptin. Halen test edilmekte olan başka inhibitörler de bulunmaktadır. DPP-4 inhibitörleri Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM) tedavisinde kullanılabilirliği kanıtlanmıştır. Bu inhibitörler monoterapi olarak ya da metformin, glitazonlar, sulfonilüre ve insülin ile beraber kullanılabilir. Çeşitli çalışmalarda DPP-4 inhibitörlerinin kardiovasküler sistem üzerinde pozitif etkiler gösterdiği, GLP-1 düzeyini yükselttiği, kardiovasküler homeostazide etkili diğer substratların yıkımını inhibe ettiği açıklanmıştır. DPP-4'ün çözünür dimerik formu plazmada dolaşım halindedir, ubiquitous membran tip DPP-4 lenfositler, endotel hücreler, böbrek ve seminal sıvı tarafından üretilmektedir. DPP-4 plazma aktivitesi, tip 1 ve tip 2 diabette önemli düzeyde yükselmekte ve HbA1c değerleri ile güçlü korelasyon göstermektedir. Tip 2 diabet hastalarında HbA1c değerinin %8.5'un üzerinde olduğu hastalarda enzim aktivitesi önemli ölçüde yükselmektedir^{35,36,37,38,39}.

Benzer şekilde Nargis ve arkadaşları çalışmalarında DPP-4'ün plazma düzeyleri ve aktivitesindeki artışın metabolik sendrom ve T2DM 'un hızlı ilerlemesiyle ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. T2DM hastalarının plazmalarındaki yüksek DPP-4 düzeyi ve aktivitesinin en önemli kaynağının dolaşımdaki immün hücreler ve özellikle de Th17 hücreleri olduğunu öne sürmüştür⁴⁰.

IV. DPP-4'ün Üreme Sistemi Üzerindeki Fonksiyonları

1. Folikül Sıvısında DPP-4

Seliger ve arkadaşları ilk olarak 1988 yılında jinekolojik cerrahiye alınan hastaların ovaryan folikül aspiratlarında DPP-4 aktivitesini tesbit etmişlerdir⁴¹.

2. İmplantasyon Belirteci Olarak DPP-4

İnsan blastosistleri, endometriuma tutunma yeteneği kazandığında embriyo ve uterus arasında karşılıklı bir iletişim başlar; embriyo ve uterus arasındaki bu başarılı iletişimi senkronize gelişme ve farklılaşma takip eder. CD26/DPP-4, endometriumun implantasyon fazının bilinen bir belirteç molekülüdür, implantasyon periyodundaki kadınlarda endometrial epitelde bu proteinin yüksek düzeyde ekspresyon edildiği bildirilmiştir. Shimomura ve arkadaşları çalışmalarında, endometrial CD26 ve embriyonal fibronektin ile gerçekleşen adhezyon mekanizmasının insan blastosist implantasyonunda etkili olduğunu vurgulamışlardır^{42,43}.

3. Endometrioziste CD26/DPP-4

Endometriozis, ektopik endometrial dokunun uterin kavitenin dışına genellikle pelvik peritona, overlere yada rektovajinal septuma implantasyonu ile karakterizedir. Endometrial stromal hücreler (ESH) normal ve patolojik endometrial davranışı düzenleyebilir. Tan ve arkadaşları çalışmalarında endometrioziste ESH'nin hipoksi şartlarında hücre hareketliliğindeki artışı ELISA ve PCR yöntemleriyle araştırmışlardır. CD26/DPP-4 ekspresyonu flow sitometrik analiz ve enzimatik aktivite yöntemleriyle tesbit edilmiştir. Hipoksi (%6.5 O₂) durumunda endometriotik ESH'nin, kontrol ESH grubundan daha fazla göç ettiği, daha agresif bir şekilde yayıldığı ve bu olayın CD26/DPP-4 yolu ile down regüle edildiği, angiogenez-İlgili genlerin ekspresyonunda artış olduğu saptanmıştır⁴⁴.

4. Prostazomlar ve CD26/DPP-4'ün İnsanda Erkek İnfertilitesindeki Önemi

Prostat, erkek aksesuar, glandular cinsiyet organı olup normal fertilité için hayati öneme sahiptir. Seminal plazmanın prostatik bölümünü içerip spermeleri besler ve ejakülasyonun ardından onları korur. Prostazomlar, küçük (40-500 nm) membrana bağlı keseler olup prostat asiniyi çevreleyen hücreler, epitel hücreler tarafından üretilmekte ve prostatik sekresyonların bir bölümünü oluşturmaktadır. Proteomik çalışmalarda, prostazomların içinde ve yüzeyinde geniş dağılım gösteren proteinler (enzimler, yapısal proteinler yeni, açıklama içermeyen proteinler) tanımlanmıştır. Prostazomlar, sperm ile birleşebilir ve proteinlerin transferini sağlayabilir. Prostazomların varlığında spermelerin motilitesi artar ve onların füzyonu prematüre akrozom

reaksiyonunu önler. Prostazomların, immünosupresif, antioksidan ve antibakteriyel özelliklerinden dolayı dışı üreme kanalı boyunca spermelerin korunmasına yardımcı olduğu gösterilmiştir. Klinik olarak bu özelliklerinden dolayı prostazomlar, erkek faktörlü infertilitede bir rol üstlenmektedir⁴⁵.

İlk çalışmalarda CD26/DPP-4'ün prostazomlarda bulunan bir protein olduğu, spermde bulunmadığı gösterilmiştir. Daha sonraları Arienti ve arkadaşları çalışmalarında, CD26/DPP-4'ün prostazomdan sperme transfer edildiğini göstermiş ve bu durumda sperm membran bağımlı enzimler kazanarak yüzeylerindeki katalitik aktiviteyi modifiye ettiklerini açıklamışlardır⁴⁶.

Sonuç

Yapılan çalışmalar sonucunda DPP-4'ün bir çok metabolik olaya katıldığı ve aktivitesinin pek çok hastalıkta farklı değerler sergilediği gösterilmiştir. Bu nedenle, hastalıkların tanı ve tedavisinde DPP-4'ün önemli bir belirteç olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Klemann C, Wagner L, Stephan M, Hörsten S. Cut to the chase: a review of CD26/dipeptidyl peptidase-4 (DPP4) entanglement in the immune system. *Clin Exp Immunol.* 2016;185:1-21.
2. Leicht S, Shipkova M, Klett C, Gert H, Altmann E, Wilhelm J. CD26/dipeptidyl peptidase IV: A comparative study of healthy persons and kidney transplant recipients before and early after transplantation. *Clin Biochem.* 2013;46:1383-8.
3. Itou M, Kawaguchi T, Taniguchi E, Sata M. Dipeptidyl peptidase-4: A key player in chronic liver disease. *World J Gastroenterol.* 2013;19:2298-2306.
4. Hetmanczyk K, Makaruk B, Kierus K, Izdebska S, Abramczuk DP, Pilch B. Monitoring of dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) activity in patients with mucopolysaccharidoses types I and II on enzyme replacement therapy-Results of a pilot study. *Clin Biochem.* 2016;49:458-462.
5. Aemaimanan P, Sattayasai N, Wara-aswapati N, Pitiphat W, Suwannarong W, Prajaneh S. Alanine aminopeptidase and Dipeptidyl Peptidase IV in saliva of chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2009;11:1809-14.
6. Ohnuma K, Marimoto C. Dipeptidyl-peptidase 4. *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol.* 2012;301-12.
7. Engel M, Hoffman T, Wagner L, Wermann M, Heiser U, Kiefersaver R. The crystal structure of dipeptidyl peptidase IV (CD26) reveals its functional regulation and enzymatic mechanism. *Biochemistry.* 2013;100:5063-8.
8. Gorrell MD. Dipeptidyl peptidase IV and related enzymes in cell biology and liver disorders. *Clin Sci.* 2005;108:277-92.
9. Pro B, Dang NH. CD26/dipeptidyl peptidase IV and its role in cancer. *Histol Histopathol.* 2004;19:1345-51.
10. Cheng HC, Abdel-Ghany M, Pauli BU. A novel consensus motif in fibronectin mediates dipeptidyl peptidase IV adhesion and metastasis. *J Biol Chem.* 2003;278:24600-7.
11. Wesley UV, McGroarty M, Homoyouni A. Dipeptidyl peptidase inhibits malignant phenotype of prostate cancer cells by blocking basic fibroblast growth factor signaling pathway. *Cancer Res.* 2005;65:1325-34.
12. Gorrell MD. Dipeptidyl peptidase IV and related enzymes in cell biology and liver disorders. *Clin Sci.* 2005;108:277-92.
13. Sato T, Yamochi T, Yamochi T, Aytac U, Ohnuma K, McKee KS, Morimoto C, Dang NH. CD26 regulates p38 mitogen-activated protein kinase-dependent phosphorylation of integrin beta1, adhesion to extracellular matrix, and tumorigenicity of T-anaplastic large cell lymphoma Karpas 299. *Cancer Res.* 2005;65:6950-6.
14. Conarello SL, Li Z, Ronan J, Roy RS, Zhu L, Jiang G, Liu F, Woods J, Zycband E, Moller DE et al. Mice lacking dipeptidyl peptidase IV are protected against obesity and insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci.* 2003;100:6825-30.
15. Hildebrandt M, Reutter W, Arck P, Rose M, Klapp BF. A guardian angel: the involvement of dipeptidyl peptidase IV in psychoneuroendocrine function, nutrition and immune defence. *Clin Sci.* 2000;99:93-104.
16. Umetsu DT, McIntire JJ, Akbari O, Maconubas C, DeKruyff RH. Asthma: an epidemic of dysregulated immunity. *Nat Immunol.* 2002;3:715-20.
17. Lun SWM, Wong CK, Ko FWS, Hui DSC, Lam CWK. Increased expression of plasma and CD⁺T lymphocyte costimulatory molecule CD26 in adult patients with allergic asthma. *J Clin Immunol.* 2007;27:430-7.
18. Reinhold D, Biton A, Pieper S. Dipeptidyl peptidase IV (DPIV, CD26) and aminopeptidase N (APN, CD13) as regulators of T cell function and targets of immunotherapy in CNS inflammation. *Int Immunopharmacol.* 2006;6:1935-42.
19. Ulusoy H, Kamanli A, İlhan N. Serum levels of soluble CD26 and CD30 and their clinical significance in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2011;32:3857-62.
20. Sromova L, Marackova H, Sedova L, Balaziová A, Sedo A. Dipeptidyl peptidase-IV in synovial fluid mononuclear cells of patients with rheumatoid arthritis. *Clin Chim Acta.* 2010;410:1046-50.
21. Hildebrandt M, Rose M, Rüter J, Salama A, Mönnikes H, Klapp BF. Dipeptidyl peptidase IV (DPIV, CD26) in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol.* 2001;36:1067-72.
22. Tsuji T, Sugahara K, Tsuruda K, Uemura A, Harasawa H, Hasegawa H et al. Clinical and oncologic implications in epigenetic down-regulation of CD26/dipeptidyl peptidase IV in adult T-cell leukemia cells. *Int J Hematol.* 2004;80:254-60.
23. Carbone A, Cozzi M, Gloghini A, Pinto A. CD26/dipeptidyl peptidase IV expression in human lymphomas is restricted to CD30-positive anaplastic large cell and a subset T-cell non-Hodgkin's lymphomas. *Hum Pathol.* 1994;25:1360-5.
24. Bernengo MG, Novelli M, Quaglino P, Lisa F, De Matteis A, Savoia P et al. The relevance of the CD4⁺ CD26⁻ subset in the identification of circulating Sezary cells. *Br J Dermatol.* 2001;144:125-35.

25. Ho L, Aytac U, Stephens LC, Ohnuma K, Mills GB, McKee KS et al. In vitro and in vivo Antitumor effect of the anti-CD26 monoclonal antibody 1F7 on human CD30+ anaplastic large cell T-cell lymphoma Karpas 299. *Clin Cancer Res.* 2001;7:2031-40.
26. Cheng HC, Abdel-Ghany M, Elble RC, Pauli BU. Lung endothelial dipeptidyl peptidase IV promotes adhesion and metastasis of rat breast cancer cells via tumor cell surface-associated fibronectin. *J Biol Chem.* 1998;273:24207-15.
27. Pang R, Law WL, Chu AC, Poon JT, Lam CS, Chow AK et al. A subpopulation of CD26+ cancer stem cells with metastatic capacity in human colorectal cancer. *Cell Stem Cell.* 2010;6:603-15.
28. Asada Y, Aratake Y, Kotani T, Marutsuka K, Araki Y, Ohtaki S et al. Expression of dipeptidyl aminopeptidase IV activity in human lung carcinoma. *Histopathology.* 1993;23:265-70.
29. Stecca BA, Nardo B, Chieco P, Mazziotti A, Bolondi L, Cavallari A. Aberrant dipeptidyl peptidase IV (DPP IV/CD26) expression in human hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 1997;27:337-45.
30. Sedo A, Malik R, Krepela E. Dipeptidyl peptidase IV in C6 rat glioma cell line differentiation. *J Biol Chem.* 1998;379:39-44.
31. Wilson MJ, Ruhland AR, Quast BJ, Reddy PK, Ewing SL, Sinha AA. Dipeptidylpeptidase IV activities are elevated in prostate cancers and adjacent benign hyperplastic glands. *J Androl.* 2000;21:220-6.
32. Kotani T, Aratake Y, Ogata Y, Umeki K, Araki Y, Hirai K et al. Expression of dipeptidyl aminopeptidase IV activity in thyroid carcinoma. *Cancer Lett.* 1991;57:203-8.
33. Pethiyagoda CL, Welch DR, Fleming TP. Dipeptidyl peptidase IV (DPPIV) inhibits cellular invasion of melanoma cells. *Clin Exp Metastasis.* 2000;18:391-400.
34. Kajiyama H, Kikkawa F, Suzuki T, Shibata K, Ino K, and Mizutani S. Prolonged survival and decreased invasive activity attributable to dipeptidyl peptidase IV overexpression in metabolic control to cardiovascular protection. *Curr Pharm Des.* 2014;20:2387-94.
35. Avogaro A, Kreuzenberg S, Fadini G. Dipeptidyl-peptidase 4 Inhibition: Linking in ovarian carcinoma. *Cancer Res.* 2002; 62:2753-7.
36. Marguet D, Baggio L, Kobayashi T, et al. Enhanced insulin secretion and improved glucose tolerance in mice lacking CD26. *PNAS.* 2000;97:6874-79.
37. Silva Junior WS, Gudoy-Matos AF, Kraemer-Aguiar LG. Dipeptidyl Peptidase 4: A new link between diabetes mellitus and atherosclerosis? *BioMed Res Int.* 2015;816164:1-10.
38. Kim NH, Yu T, Lee DH. The nonglycemic actions of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *BioMed Res Int.* 2014; 368703:1-10.
39. Nongonierma AB, FitzGerald RJ. Features of dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) Inhibitory peptides from dietary proteins. *J Food Biochem.* 2017;12451:1-11.
40. Nargis T, Kumar K, Ghosh AR, Sharma A, Rudra D, Sen D. KLK5 induces shedding of DPP4 from circulatory Th17 cells in Type 2 Diabetes *Mol Met.* 2017;9:4.
41. Seliger E, Blumenauer V, Heins J, Neubert K, Kaltwasser P, Schöneich C. Detection of dipeptidyl peptidase IV in follicular fluid—initial report. *Zentralbl Gynakol.* 1988;110:1312-4.
42. Shimomura Y, Ando H, Frugori K, Kajiyama H, Suzuki M, Iwase A. Possible involvement of crosstalk cell-adhesion mechanism by endometrial CD26/dipeptidyl peptidase IV and embryonal fibronectin in human blastocyst implantation. *Mol Hum Reprod.* 2006;12:491-5.
43. Dolanbay EG, Yardımoğlu M, Yalçınkaya E, Hazır Y, Aksoy A, Karaöz E et al. Expression of trophinin and dipeptidyl peptidase IV in endometrial co-culture in the presence of an embryo: A comparative immunocytochemical study. *Mol Med Rep.* 2016;13:3961-8.
44. Tan CW, Eng B, Lee YH, Tan HH, Lau MSK, Choolani M. CD26/DPPIV down-regulation in endometrial stromal cell migration in endometriosis. *Fertil Steril.* 2014;102:167-77.
45. Burden HP, Holmes CH, Persad R, Whittington K. Prostatomes-their effects on human male reproduction. *Hum Reprod Update.* 2006;12:283-92.
46. Arienti G, Polci A, Carlini E, Palmerini CA. Transfer of CD26/dipeptidyl peptidase IV (E.C 3.5.4.4) from prostatomes to sperm. *FEBS Letters.* 1997;410:343-6.

Correspondence Address / Yazışma Adresi

Hülya Leventerler
 Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi
 Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı
 Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezi
 Adana, Turkey
 e-mail: hleventerler@cu.edu.tr

Geliş tarihi/ Received: 11.03.2018

Kabul tarihi/ Accepted: 19.05.2018