



ACE1, ACE2 et coronavirus

23 avril 2020

ACE1 et ACE2, des cousins éloignés

Essayons de mettre en ordre les informations que nous possédons sur le récepteur moléculaire du SARS-Coronavirus-2. Le récepteur du virus est une protéine appelée « angiotensin-converting enzyme 2 » ou ACE2. Elle tire son nom d'une homologie de séquence avec une autre protéine, l'angiotensin-converting enzyme1 (ACE1), qui produit l'angiotensine II à partir d'un précurseur peptidique inactif, l'angiotensine I. L'angiotensine II est la molécule active du système rénine angiotensine (SRA), impliquée dans la régulation de la pression artérielle et de l'hémodynamique cardiaque et rénale.

L'angiotensine II agit sur un récepteur cellulaire (récepteur AT1) qui appartient à la super famille des récepteurs couplés aux protéines G. L'interaction de l'angiotensine II avec son récepteur AT1 est bloquée par des antagonistes pharmacologiques du récepteur de l'angiotensine II, dénommés sartans.

L'ACE1 est inhibée par les inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC) de l'angiotensine, dont le chef de file est le captopril. Les IEC et les sartans sont très utilisés dans le traitement de l'hypertension artérielle, de l'insuffisance cardiaque et de l'insuffisance rénale, avec un effet thérapeutique comparable.

Une confusion peut s'établir du fait d'une dénomination similaire et trompeuse pour ACE1 et ACE2. Ces deux enzymes sont certes proches structuralement mais ont des fonctions bien distinctes. L'ACE1 est une dipeptidyl-carboxypeptidase, l'ACE2 une mono-carboxypeptidase. Les substrats des deux enzymes sont différents. Les IEC bloquent l'activité de l'ACE1 mais pas celle de l'ACE2. En outre, ACE1 et ACE2 agissent sur deux voies distinctes du métabolisme des angiotensines qui aboutissent à des fonctions opposées, ce qui complique encore les choses. La voie de l'ACE1 aboutit à une vasoconstriction, la voie de l'ACE2 favoriserait une vasodilatation. L'ACE2, enfin est le récepteur (ou un corécepteur ?) de coronavirus, propriété que ne partage pas l'ACE1.

Ces données ouvrent des pistes de réflexion : bloquer l'interaction du virus avec sa molécule réceptrice pourrait-elle être une voie thérapeutique ? Qu'en est-il des patients hypertendus ou insuffisants cardiaques qui prennent des IEC ou des sartans ? Sont-ils plus à risque de développer une infection à coronavirus ? ou inversement les traitements par IEC ou sartans pourraient-ils être un adjuvant aux traitements antiviraux ?

Ce que l'on sait aujourd'hui d'ACE2 en biologie, et en physiopathologie animale et humaine

1/ Principales caractéristiques moléculaires et cellulaires de l'ACE2

Le gène de l'ACE2 est localisé sur le chromosome X (rat, souris, homme) alors que le gène ACE1 est situé sur le chromosome 17. L'organisation du gène de l'ACE2 est similaire à celle de l'ACE1. Une seule protéine est produite à partir du gène ACE2 alors que deux le sont pour le gène ACE1.



La séquence protéique de l'ACE2 est 60% similaire à celle de l'ACE1. Chaque protéine a été cristallisée.

La protéine ACE2 est ancrée dans la membrane cellulaire par un domaine transmembranaire, l'essentiel de la protéine, dont le site catalytique, est situé dans l'espace extracellulaire. L'ACE2 est solubilisée *in vitro* par une sécrétase/sheddase (de type ADAM like ?). Comme l'ACE1, l'ACE2 est exprimée dans les cellules endothéliales pulmonaires, cardiaque, rénale et du tube digestif. La protéine ACE1 circule dans le sang, alors que les données manquent pour l'ACE2.

L'ACE2, comme l'ACE1, est une zinc métallopeptidase activable *in vitro* par le chlore. Les substrats des deux enzymes sont différents. Très schématiquement, l'ACE1 clive l'angiotensine I inactive en angiotensine II, un peptide vasopresseur. L'ACE2 clive l'angiotensine II en une « angiotensine 1-7 » qui a une action vasodilatatrice en agissant sur un autre récepteur cellulaire que celui de l'angiotensine II, le MAS 1 proto-oncogène receptor. L'ACE2 agit aussi sur le métabolisme d'autres peptides impliqués en physiologie cardiovasculaire comme l'apéline, et la bradykinine. Enfin, l'ACE2 du fait de son activité mono-carboxypeptidasique peut être considérée aussi comme une enzyme de dégradation finale des petits peptides.

2/ ACE2 : physiopathologie

- Physiopathologie cardiovasculaire

La découverte de l'angiotensine 1-7 générée par l'ACE2 soulève l'hypothèse d'un système alterne au SRA classique. Un rôle de l'ACE2 sur la fonction ventriculaire gauche a été proposé par JM Penninger (Nature, 2002) qui a montré que le KO de l'ACE2 chez la souris provoque une dysfonction ventriculaire gauche. Récemment, il a été suggéré qu'accroître l'activité de l'ACE2 aurait un effet protecteur sur le ventricule gauche dans l'infarctus du myocarde expérimental (Badae NM et al, Can J Physiol, 2019). Ces auteurs utilisent un "activateur" de l'ACE2, le diminazene aceturate qui est un agent anti-infectieux contre les protozoaires et utilisé en médecine vétérinaire.

Il y aurait donc possiblement une balance entre un système rénine « classique », vasoconstricteur, et un système alterne, ACE2-angiotensine 1-7 MAS1 receptor à action opposée, vasodilatatrice. L'importance de ce dernier en physiopathologie vasculaire est toutefois difficile à évaluer du fait du manque d'outils pharmacologiques capables de le bloquer ou de le stimuler. Le KO d'ACE2 chez la souris n'a pas d'effet sur le niveau de la pression artérielle, à l'inverse de celui d'ACE1 qui entraîne une baisse marquée de la pression artérielle. L'inhibition d'ACE2, induite par le DX600 administré en iv chez l'animal, entraîne une baisse paradoxale de la pression artérielle. Il est donc difficile de conclure sur l'importance en physiopathologie cardiovasculaire de l'effet contre-régulateur du système ACE2-Angiotensine 1-7.

- ACE2, récepteur de certains coronavirus

La découverte d'ACE2 comme récepteur de certains coronavirus était totalement inattendue des biologistes et des cliniciens. L'ACE2 est un récepteur clé pour l'entrée dans les cellules humaines de différents types de coronavirus, et notamment le SARS-CoV-2 responsable du COVID-19. Les articles de Penninger et al dans Nature (2005) et dans Nature Med de 2005 ont montré qu'*in vivo* chez l'animal, l'ACE2 est un récepteur du SRAS-CoV. Son entrée dans les cellules pulmonaires a été récemment démontrée par M. Hoffmann et al (2020). L'attaque du coronavirus provoque au niveau pulmonaire un accroissement de la perméabilité vasculaire et un œdème vasculaire. Selon Penninger JM, (Curr Opinion in Pharmacology, 2006), l'administration d'ACE2 recombinant pourrait protéger le poumon et atténuer l'insuffisance respiratoire dans plusieurs modèles animaux déclenchés par le SRAS-CoV. Quel pourrait donc être le rôle de la stimulation de la voie du système rénine-angiotensine lors de l'agression pulmonaire, et/ou de celle d'une voie indépendante de l'angiotensine II ?

Questions connexes :

- La localisation d'ACE2 dans d'autres organes que le poumon pourrait-elle expliquer certaines manifestations cliniques de l'infection par le COVID-19 : troubles digestifs, troubles cardiaques, insuffisance rénale ?
- Il existe une susceptibilité différente au SRAS du au coronavirus selon le sexe : Les souris mâles sont plus susceptibles que les souris femelles (R. Channappanavar, J. Immunol, 2017) qui pourrait être liée à un effet protecteur des estrogènes sur la perméabilité vasculaire.

COVID-19, ACE2 et hypertension

On comprend bien que l'on puisse s'interroger sur l'effet du blocage du système rénine-angiotensine par les IEC ou les sartans dans l'infection respiratoire due au SRAS-CoV-2. L'entrée du Cov-19 est-elle favorisée chez les patients sous IEC (ils sont des millions dans le monde...) du fait d'une « balance » ACE1/ACE2 dérégulée en faveur de ACE2 ? Nous ne le savons pas avec certitude.

Toutefois, Il n'y pas actuellement de données cliniques disant qu'il faille modifier le traitement anti-hypertenseur par les IEC ou les sartans en cas de COVID-19. Les sociétés française, européennes et internationale d'HTA préconisent de ne pas modifier les traitements anti-hypertenseurs à base d'inhibiteurs du système rénine-angiotensine, elles précisent qu'il n'y a pas d'arguments pour dire que les patients hypertendus sous IEC sont plus à risque d'infection par le COVID-19, ou que les IEC aggravent ou améliorent le déroulement de l'infection. Les traitements doivent donc être *a priori* poursuivis (Fang L, Karakiulakis G, Roth M. Are patients with hypertension and diabetes mellitus at increased risk for COVID-19 infection ? (Lancet Respir Med 2020).

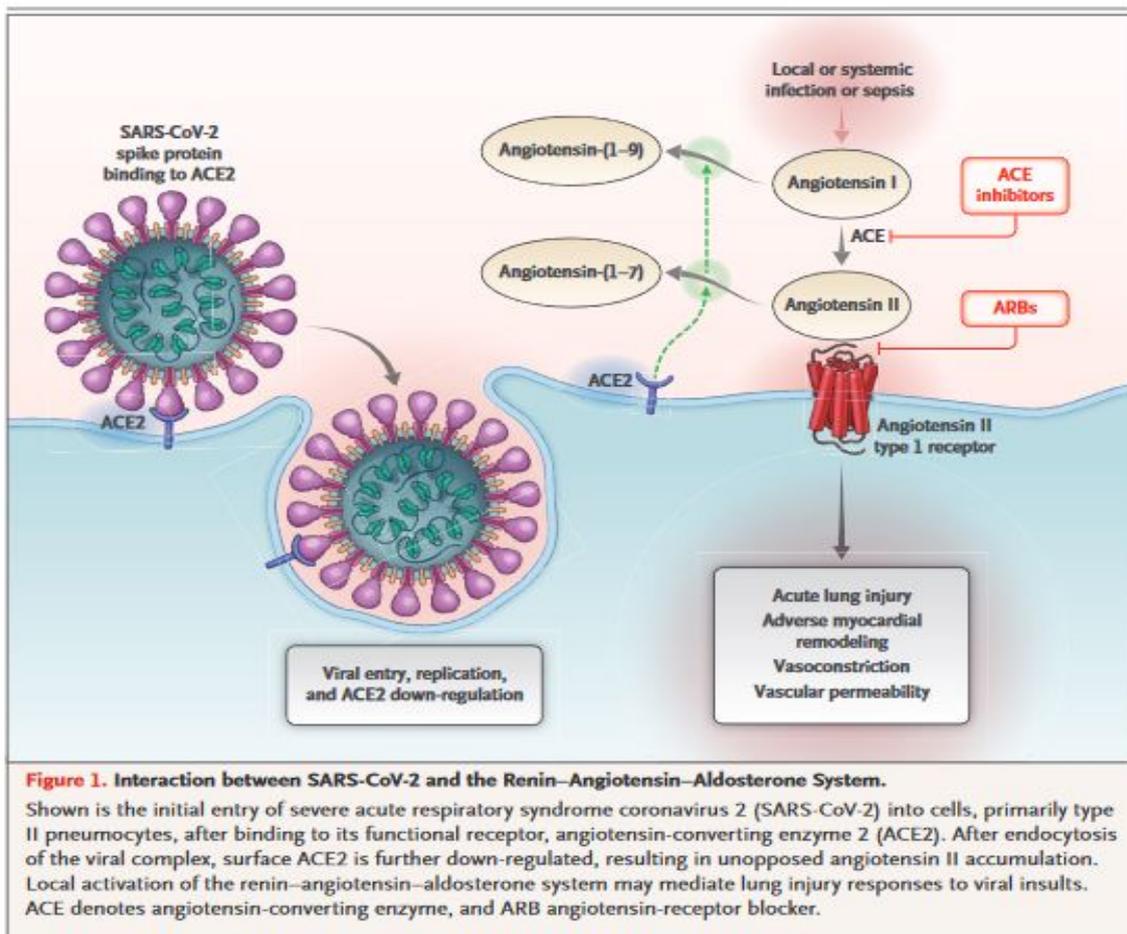


Figure de l'article NEJM « Renin-Angiotensin-Aldosterone System Inhibitors in Patients with COVID-19 », Muthiah Vaduganathan and all ... Mars 2020



ACE2, le récepteur supposé du SARS-Cov-2 est-il bien exprimé dans le poumon ?

La question peut sembler surprenante tellement il semble acquis que le virus utilise ACE2 dans les cellules pulmonaires comme porte d'entrée dans l'organisme humain mais elle est posée par un groupe suédois de pathologistes (Uppsala et Karolinska) qui a un déposé un préprint dans bioRxiv intitulé : **The protein expression profile of ACE2 in human tissues (F. Hikmet et al.)**. La conclusion de l'abstract de cet article est : "Our analysis suggests that the expression of ACE2 in the human respiratory system appears to be limited, and the expression of the receptor in lung or respiratory epithelia on the protein level is yet to be confirmed. This raises questions regarding the role of ACE2 for infection of human lungs and highlights the need to further explore the route of transmission during SARS-CoV-2 infection."

<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.03.31.016048v1.full.pdf>

En résumé, voici les données sur lesquelles s'appuient les auteurs :

- a/ *Immunohistochimie (IHC)* : Pas de détection de la protéine ACE2 dans le poumon humain par IHC. Deux anticorps (Ac différents ont été utilisés. Quelle base pour leur génération : protéine entière ou peptide ? Ac commerciaux, polyclonal chez le lapin pour l'un, monoclonal chez la souris pour l'autre. Fixation des tissus ? Rôle du formol ? Pas de tissu congelé étudié au cryostat. Possible masquage d'épitopes
Pas d'expression dans les cellules alvéolaires de type II (AT2cells), ni dans une lignée pulmonaire cancéreuse A549. Oui, mais possible dédifférenciation de ces cellules lors des différents passages.
- b/ *Spectre de masse*. Pas de présence ACE2 dans le poumon. Résultat tiré de données de banques ?
- c/ *Transcriptomique*, y compris sur cellule unique. Pas ou très peu de mRNA. Pb du type cellulaire, sensibilité
- d/ *Lignées cellulaires humaines*. Pas de transcrite dans A549 dérivé d'un carcinome pulmonaire à partir de cellules alvéolaires épithéliales. Dédifférenciation ? Contrôles ?

Ces résultats contrastent avec ceux de la littérature :

- 1/ *Présence d'ACE2 dans le poumon humain détectée par anticorps* (Hamming I, J Pathol, 2003)
- 2/ *L'article de Menachery V et al, Nature Medicine, 2015* montre qu'un SARCoV chimérique se réplique dans le poumon. Utilisation de cultures **primaires** de cellules épithéliales humaines (Human Airway Epithelial cells - HAE cultures « represent highly differentiated human airway epithelium containing ciliated and non-ciliated epithelial cells as well as goblet cells »)
- 3/ *Etude d'une cohorte de 92 patients ayant un ARDS* : patients ventilés, prélèvement de *liquide de lavage bronchio-alvéolaire*. Etude effectuée chez des nouveau-nés, enfants, adultes et sujets âgés. Pas d'infection par coronavirus dans l'étude. Hypothèse d'une balance en faveur de ACE et d'Ang II avec l'âge (Shouten, 2016). Présence de marqueurs inflammatoires, d'ACE1 et d'ACE2 caractérisés par leur activité enzymatique dans le liquide de lavage. Mortalité élevée chez les sujets âgés. Accroissement des médiateurs de l'inflammation avec l'âge, surtout ceux impliqués dans la réponse aux neutrophiles. ACE1 et 2 sont présents dans le liquide lavage, pas de différence suivant l'âge (Shouten L, et al Critical Care Med, 2019).
- 4/ Les résultats de l'étude suédoise diffèrent de ceux de G. Rivière et al (Hypertension, 2005) chez le rat de 4 mois qui montre *la distribution tissulaire d'ACE2 et d'ACE1 dans le poumon par hybridation in situ (ISH), RTPCR semi quantitative et par l'activité enzymatique d'ACE2* en utilisant l'Ang II comme substrat en présence ou non d'un inhibiteur de la réaction (DX100).

En conclusion, on peut émettre des réserves méthodologiques quant à la conclusion des auteurs sur la quasi-absence d'ACE2 dans le poumon humain. En revanche, ils insistent avec raison sur la



présence de la protéine dans l'intestin et le rein, autres portes d'entrée possibles du virus. La présence de formes précoces à manifestations digestives du COVID-19 pourrait être en rapport avec cette localisation de ACE2.

L'ACE2 recombinant pourrait-il être une piste de traitement du coronavirus ?

ACE2 serait la porte d'entrée du SARS-CoV-2 dans l'organisme, vraisemblablement au niveau des voies aériennes supérieures et du poumon. La protéine virale spike se lie à une région spécifique de l'ACE2 (RBD - Receptor binding domaine). On pourrait envisager un traitement consistant à bloquer l'interaction de l'ACE2 avec le SARS-CoV-2.

Les arguments en faveur d'une telle stratégie utilisant l'ACE2 soluble comme leurre viennent en grande partie de l'équipe de Josef Penninger et sont les suivants :

- 1/ Absence de pathologie pulmonaire induite par le SARS-CoV, un coronavirus homologue à SARS-CoV-2, chez des souris dépourvues d'ACE2 (souris ACE2 -/-)
- 2/ La surexpression d'ACE2 chez la souris exacerbe l'infection pulmonaire par le SARS-CoV
- 3/ Atténuation de la pathologie pulmonaire par l'ACE2 humain recombinant soluble (hrsACE2) chez la souris infectée par le SARS-CoV
- 4/ Inhibition *in vitro* par hrsACE2 de l'infection par SARS-Cov-2 d'organoïdes humains (vaisseaux sanguins et rein) (Monteil V et al, Préprint Cell Press)

Par ailleurs, deux études de tolérance et de preuve de concept (POC) utilisant hrsACE2 ont été effectuées chez l'homme :

- 1/ hrsACE2 a déjà été administré en phase 1 par voie iv chez l'homme en 2013 avec une bonne tolérance, chez des sujets normaux volontaires. Pas de modification des paramètres CV, baisse du taux d'angiotensine 1-8 circulante.
- 2/ En 2017, un essai POC (double aveugle, contrôlé, placebo) a été mené dans le syndrome aigu de détresse respiratoire (ARDS) par A. Kahn et al (Crit Care, 2017), avec un ACE2 recombinant provenant de GSK (0.4 mg/KgX2 pendant 3j, en iv). On note, comme attendu, une baisse de l'angiotensine 1-8 et une élévation de l'angiotensine 1-7. 60 patients étaient prévus initialement mais le protocole a été interrompu en analyse intérimaire du fait de l'absence d'effet sur les critères de ventilation et de PO₂. A noter que cette étude négative a été faite chez des patients en ARDS de causes diverses et non liées à une infection par un coronavirus.

Cette piste thérapeutique, par administration d'ACE2 en aérosol) serait toujours explorée.

Problème posé : quelles seront les quantités stochiométriques d'ACE2 sans doute nécessaires pour bloquer l'interaction du virus avec la membrane apicale des cellules épithéliales pulmonaires réceptrices, mais aussi les cellules digestives et rénales ? Autres types d'administration d'un ACE2 recombinant ?

Cette fiche a été conçue et rédigée par la cellule de crise Coronavirus de l'Académie des sciences. Créée à l'initiative de Pascale Cossart, Secrétaire perpétuel de l'Académie, celle-ci réunit des académiciens experts du domaine : Jean-François Bach, Pierre Corvol, Dominique Costagliola, Pascale Cossart (coordinatrice), Patrick Couvreur, Olivier Faugeras, Daniel Louvard, Félix Rey, Philippe Sansonetti, Alain-Jacques Valleron.

Les informations qui figurent sur cette fiche ont été produites collectivement et sont susceptibles d'évoluer. Elles seront éventuellement réactualisées en fonction des avancées des connaissances scientifiques.