



Covid-19: aspects endocriniens et perspectives thérapeutiques

Hernan Valdes-Socin¹, David Waltregny²

1. Service d'Endocrinologie, CHU de Liège, ULg

2. Service d'Urologie, CHU de Liège, ULg

En décembre 2019, une pneumonie causée par un nouveau virus appelé SARS-Cov-2 survient à Wuhan, dans la province du Hub, en Chine. En mars 2020, une pandémie virale déclenchée par le SARS-Cov-2 embrase la planète (1). Une des portes d'entrée cellulaire de ce virus est l'enzyme de conversion de l'angiotensine-2 (ACE-2), enzyme issue du système rénine-angiotensine-aldostérone (2). Un deuxième élément clé pour l'infection virale chez l'humain, objet principal de cet article, est la sérine protéase transmembranaire 2 (TMPRSS2), régulée par les androgènes (3).

La voie de signalisation de TMPRSS2 dans les différents tissus de l'organisme et sa régulation hormonale restent encore mal comprises. Et pourtant, dans la lutte pour améliorer la prise en charge des malades avec Covid-19, cette connaissance semble indispensable. Dans cette deuxième contribution, nous synthétisons les efforts de recherche qui ciblent la TMPRSS2, avec l'espoir de pouvoir agir sur le plan thérapeutique vis-à-vis de l'infection par SARS-CoV-2.

La sérine protéase transmembranaire 2 (TMPRSS2)

Lorsque SARS-CoV-2 se lie au récepteur ACE-2 (enzyme de conversion de l'angiotensine de type 2) de sa cellule hôte à l'aide d'une protéine S issue de sa couronne, le complexe virus-cellule est modifié par l'enzyme «transmembrane protease serine 2» (TMPRSS2). L'action protéolytique de cette dernière conduit au clivage de l'ACE-2 et à l'activation de la protéine S virale, selon un mécanisme semblable à celui observé pour le virus de la grippe ou pour le coronavirus SARS-CoV-1, facilitant ainsi la pénétration du virus dans sa cellule cible (3).

La sérine protéase transmembranaire 2 est codée par le gène TMPRSS2, situé dans le chromosome 21q22. Lorsque le gène TMPRSS2 est supprimé, l'absence de cette enzyme n'est pas létale pour la survie dans un modèle de souris TMPRSS2

«knock out» (4). L'avantage, cependant pour ces souris génétiquement modifiées, c'est qu'elles sont résistantes à l'infection par le SARS-CoV-2. L'expression du gène de l'enzyme TMPRSS2 est à son tour favorisée par les androgènes, via le récepteur aux androgènes (AR), dont le gène est situé dans le chromosome X (5). Dans les poumons, qui représentent une des atteintes principales du SARS-CoV-2, le récepteur aux androgènes est présent dans les pneumocytes de type II et régule la sécrétion du surfactant pulmonaire. Le surfactant pulmonaire réduit la tension de surface des alvéoles. En empêchant les alvéoles de se collapsier, le surfactant diminue in fine le travail respiratoire. Le poumon fœtal et le poumon adulte sont eux aussi sensibles aux androgènes (6). Dès lors, en raison de la réduction du nombre de pneumocytes de type II et du manque de surfactant, le syndrome de détresse respiratoire néonatale est plus fréquent chez les garçons (7). Expérimentalement, le traitement

par androgènes a permis d'augmenter l'expression d'AR dans les cellules pulmonaires (6). L'ensemble de ces données pourraient expliquer en partie que les hommes sont plus sévèrement atteints par le Covid-19 et a fortiori plus touchés par l'atteinte pulmonaire virale. En effet, dès les premières séries de patients chinois avec Covid-19, il est apparu évident que les hommes sont plus gravement affectés par rapport aux femmes. Cette différence se maintient pour les femmes âgées et ménopausées. Par contre, d'après trois séries publiées comprenant une centaine de patientes enceintes, ces femmes ne semblent pas gravement touchées par le SARS-CoV-2 (8-10). Ces données cliniques, ainsi que différents modèles animaux, rappellent un certain effet protecteur des œstrogènes et de la progestérone vis-à-vis des infections virales. Comme nous allons le développer plus loin, des études de supplémentation hormonale sont en cours pour tester cette hypothèse.

Figure 1: Charles Brenton Huggins (1901-1997). Huggins obtient le Prix Nobel de Médecine ou Physiologie en 1966 pour ses découvertes concernant le traitement hormonal du cancer de la prostate. Crédits: Wikipedia



L'enzyme TMPRSS2 est fortement exprimée dans le tissu prostatique normal. Son rôle a été bien étudié dans la genèse des métastases du cancer de la prostate. En effet, dans les cellules prostatiques néoplasiques, par un mécanisme de réarrangement chromosomique de novo, le gène de TMPRSS2 fusionne fréquemment avec un deuxième gène ERG (11). Le gène ERG (*Erythroblast transformation-specific Related Gene*) est un proto-oncogène régulant la prolifération cellulaire. Cette fusion TMPRSS2/ERG est présente dans environ 15% des néoplasies de prostate intra-épithéliales de haut grade et dans environ 50% des cancers de prostate localisés. Grâce aux modèles murins, il a été possible de démontrer que cette protéase régule l'invasion des cellules prostatiques cancéreuses et leurs métastases, à partir de l'activation de l'axe *Hepatocyte Growth Factor/c-met*. Fait intéressant, un inhibiteur de TMPRSS2 a permis de supprimer les métastases de cancer de la prostate chez la souris (12).

Depuis les travaux de Charles Brenton Huggins (1901-1997) (**Figure 1**), le cancer de la prostate est connu pour être sensible à la déprivation androgénique. En 1941, Huggins et Clarence Hodges ont traité avec succès des hommes atteints d'un cancer de la prostate, en recourant à la castration chirurgicale ou à l'administration

d'œstrogènes (13). De nos jours, le traitement pour le cancer avancé de la prostate implique une castration chimique, qui mène à une réduction de l'expression de TMPRSS2-ERG dans des tumeurs de la prostate exprimant cette protéine de fusion (**Figure 2**). Cependant, avec le temps, les patients progressent presque invariablement. Ils développent en effet des mécanismes de résistance aux androgènes et restaurent l'expression de TMPRSS2-ERG (14).

TMPRSS2: cible thérapeutique du Covid-19?

Étant donné le rôle clé de l'enzyme TMPRSS2 pour faciliter l'infection par SARS-CoV-2, différentes stratégies thérapeutiques destinées à combattre l'infection ont été proposées. Ces stratégies visent en premier lieu à identifier des molécules déjà disponibles en clinique et qui pourraient avoir un effet inhibiteur sur TMPRSS2.

Le camostat mesilate (Foipan™) est un inhibiteur commercial oral de la sérine protéase TMPRSS2. Aux doses de 100 à 300mg/jour, il a été utilisé dans le traitement du cancer pulmonaire épidermoïde, et dans la pancréatite, pour inhiber les enzymes pancréatiques. Hoffman et al. ont démontré que le camostat mesilate, inhibe in vitro la TMPRSS2 dans les cellules de poumon humain, avec pour conséquence une réduction de l'infection par le SARS-CoV-2 (15).

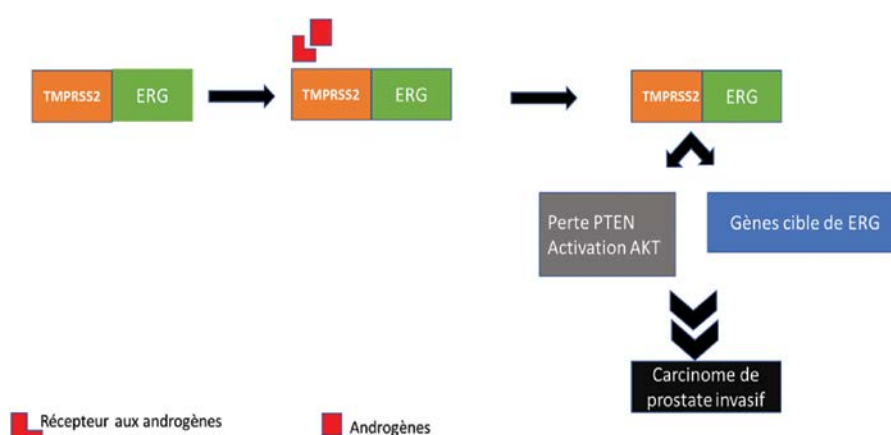
Le nafamostat mesilate (Buipel™) est un inhibiteur clinique synthétique de la protéase de sérine, plus efficace que le camostat mesilate. Il est approuvé au Japon pour le traitement de la pancréatite aiguë, la coagulation intravasculaire disséminée et pour l'anticoagulation dans la circulation extracorporelle. In vitro, dans des cellules simiennes infectées par SARS-CoV2, cette molécule a permis de prévenir l'infection par le SARS-CoV-2 (16).

La bromhexine hydrochloride (Bisolvon™) est un agent mucolytique qui a montré également un effet inhibiteur sur les métastases de cancer de la prostate chez la souris. En outre, il inhibe l'action de la TMPRSS2 à faible concentration (IC50 = 0,75µM) et il est proposé comme traitement des patients avec Covid-19 (17); une étude clinique est en cours (NCT04273763).

Un autre médicament candidat est l'aprotinine, un polypeptide composé de 58 résidus d'acides aminés, purifié à partir du poumon bovin. Ce polypeptide peut inhiber les sérines protéases: l'inhalation d'aprotinine par aérosol a un effet thérapeutique contre la grippe et le virus para-influenza, chez les souris et chez les humains. Un aérosol à particules d'aprotinine a été approuvé en Russie pour le traitement des patients atteints d'infections grippales légères à modérées (18).

Il faut cependant se rappeler que la nature non spécifique de certains de ces inhibiteurs

Figure 2: Biologie de la fusion des gènes TMPRSS2-ERG dans le cancer de la prostate.



La liaison du complexe AR et androgènes avec les gènes fusionnés TMPRSS2-ERG détermine une sur expression de EGR. Par la suite, EGR agit en cascade sur d'autres gènes pouvant faciliter la progression des cellules prostatiques vers un cancer de la prostate. En particulier, la perte de PTEN et la surexpression de AKT favorisent un carcinome invasif dans les tissus TMPRSS2-ERG positives. (Adapté de: 11 et 12)

enzymatiques peut causer des effets secondaires imprévisibles. Par exemple, la *Food and Drug Administration* (FDA) a constaté que l'aprotinine augmente les risques d'insuffisance rénale, de maladie cardiaque et d'accident vasculaire cérébral, ce qui restreint ou interdit le médicament dans certains pays.

Par conséquent, il est nécessaire de développer des inhibiteurs qui ciblent spécifiquement TMPRSS2. Bottcher-Friebertsh-auser et al. (19) ont par exemple conçu une sonde ADN «antisense», avec une faible toxicité, sous forme d'oligomère de phosphorodiamidate (PPMO). Cette molécule peut facilement entrer dans les cellules et modifier l'épissage de l'ARN messager de l'enzyme TMPRSS2. Dans les cellules traitées avec PPMO, TMPRSS2 s'exprime alors sous une forme incomplète et enzymatiquement inactive. Cette procédure a permis de réduire les concentrations du virus de la grippe H1N1 (A/Memphis/14/96) 100 à 1.000 fois dans des cellules pulmonaires in vitro (19).

Régulation hormonale de TMPRSS2: cible thérapeutique du Covid-19?

Puisque le gène TMPRSS2 est surexprimé dans certains cancers agressifs de la prostate et qu'il est modulable par les androgènes, une étude italienne a abordé cette situation clinique (20). Ils ont comparé le risque d'infection Covid-19 d'un groupe de 3.500 patients avec un cancer de la prostate à celui de la population normale. L'étude a conclu que les premiers ont un risque augmenté par rapport aux patients sans cancer. Cependant, selon les auteurs, le risque de Covid-19 serait moindre chez ceux qui sont traités par déprivation androgénique. Vu que parmi ces milliers de patients avec un cancer de la prostate avec Covid-19, seulement quatre avaient un traitement de déprivation hormonale, il semble difficile de tirer des conclusions définitives. D'autres études, comme celle menée par la Veterans Administration, projettent d'étudier, chez des

hommes admis pour Covid-19, l'effet du degarelix (molécule qui bloque le GnRH et la sécrétion testiculaire de testostérone) versus placebo.

Des études qui testent l'effet protecteur des œstrogènes et de la progestérone vis-à-vis de l'infection par SARS-CoV2 sont également en cours. L'étude randomisée de phase II «*Estrogen Patch for COVID-19 Symptoms*» (NCT04359329), propose un traitement de 100µg d'estradiol en patch pendant 7 jours. L'hypothèse de cette étude est que cette supplémentation hormonale pourrait diminuer la sévérité de l'infection chez les hommes adultes et les femmes âgées avant de requérir une intubation. Une deuxième étude «*Progesterone for the Treatment of COVID-19 in Hospitalized Men*» (NCT04365127) prévoit d'administrer de la Progestérone 100mg deux fois par jour en s.c. avec les mêmes objectifs.

Conclusions et perspectives

Les progrès récents dans l'identification et la compréhension du mécanisme d'action physiologique et pathologique de l'enzyme TMPRSS2 sont considérables. Cependant, des efforts supplémentaires sont nécessaires pour pouvoir concevoir et implémenter de nouvelles stratégies antivirales qui l'utilisent comme cible thérapeutique pour les patients infectés Covid-19. En appréhendant les effets réciproques entre le virus, l'enzyme et les tissus cibles, il sera possible aussi de mieux comprendre le rôle de cette enzyme dans d'autres processus pathologiques menant au cancer, comme dans le cas du cancer de la prostate. Chez les patients qui ont contracté le Covid-19, la possibilité de pouvoir moduler l'activité de TMPRSS2 est un nouveau chapitre, en cours d'écriture, qu'il faudra suivre avec attention.

Remerciements: Nous remercions Mme Véronique Gatzweiler pour la relecture du manuscrit.

Références

1. Valdes-Socin H. La Saga du système rénine-angiotensine-aldostérone. Histoire des Sciences Médicales 2020 (soumis).
2. Valdes-Socin H. Cardiovascular System. In: Valdes-Socin, Joret F. Physiopathology for Biomedical Sciences Students 2020:1-16. University of Liege.
3. Hoffmann M, Kleine-Wever H, Kruger N, Muller M, Drosten C, Pohlmann S. The novel coronavirus 2019 (2019-nCoV) uses the SARS coronavirus receptor ACE-2 and the cellular protease TMPRSS2 for entry in target cells. Cell 2020;181:1-10. doi:10.1016/j.cell.2020.02.05.
4. Kim TS, C Heinlein, RC Hackman, PS Nelson. Phenotypic analysis of mice lacking the Tmprss2-encoded protease. Mol. Cell. Biol 2006 ;26:965-75.
5. B Lin, C Ferguson, JT White, S Wang. Prostate-localized and androgen-regulated expression of the membrane-bound serine protease TMPRSS2. Cancer Research 1999;59(17):4180-84.
6. Mikkonen L, Pihlajamaa P, Sahu B, Zhang FP. Androgen receptor and androgen-dependent gene expression in lung. Molecular and Cellular Endocrinology 2010; 317(1-2):12-24.
7. Perelman RH, Palta M, Kirby R, Farrell PM. Discordance between male and female deaths due to the respiratory distress syndrome. Pediatrics 1986;78(2):238-44.
8. Breslin N, Baptiste C, Gyamfi-Bannerman C, Miller R, Martinez R, Bernstein K, Ring L, Landau R, Purisch S, Friedman AM, Fuchs K, Sutton D, Andrikopoulou M, Rupley D, Sheen JJ, Aubey J, Zork N, Moroz L, Mourad M, Wapner R, Simpson LL, D'Alton ME, Goffman D. COVID-19 infection among asymptomatic and symptomatic pregnant women: Two weeks of confirmed presentations to an affiliated part of New York City hospitals. Am J Obstet Gynecol MFM 2020 Apr 9:100118. doi: 10.1016/j.ajogmf.2020.100118.
9. Hall OJ, Limjunyawong N, Vermillion MS, Robinson DP, Wohlgemuth N, Pekosz A, Mitzner W, Klein SL. Progesterone-Based Therapy Protects Against Influenza by Promoting Lung Repair and Recovery in Females. PLoS Pathog 2016;12(9):e1005840. doi: 10.1371/journal.ppat.1005840. eCollection 2016 Sep.
10. Yang H, Sun G, Tang F, Peng M, Gao Y, Peng J, Xie H, Zhao Y, Jin Z. Clinical features and outcomes of pregnant women suspected of coronavirus disease 2019. J Infect 2020 Apr 12. pii: S0163-4453(20)30212-7. doi: 10.1016/j.jinf.2020.04.003.
11. Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S, Dhanasekaran SM, Mehra R, Sun XV, Varambally S, Cao X, Tchinda J, Kuefer R, Lee C, Montie JE, Shah RB, Pienta KJ, Rubin MA, Chinnaiyan AM. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. Science 2005 028;310(5748):644-8.
12. Lucas JM, Heinlein C, Kim T, Hernandez SA, et al. The Androgen-Regulated Protease TMPRSS2 Activates a Proteolytic Cascade Involving Components of the Tumor Microenvironment and Promotes Prostate Cancer Metastasis. Cancer Discov 2014;4(11):1310-25.
13. Huggins C, Hodges CV. Studies on Prostatic Cancer. I. The effect of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. Cancer Research 1941(1):293-7.
14. St John J, Powell K, Conley-Lacomb MK, Chinni SR. TMPRSS2-ERG Fusion Gene Expression in Prostate Tumor Cells and Its Clinical and Biological Significance in Prostate Cancer Progression. J Cancer Sci Ther 2012;26(4):94-101.
15. Hoffmann, H, Kleine-Weber, S, Schroeder, N, Krüger, T, Herrler, S, Erichsen, et al., SARS-CoV2 cell entry depends on ACE-2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease receptor, Cell (2020) Mar 4. pii: S0092-8674(20)30229-4.
16. M Yamamoto, S Matsuyama, X Li, M Takeda, Y Kawaguchi, J Inoue, Z Matsuda Identification of nafamostat as a potent inhibitor of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus S protein-mediated membrane fusion using the split-protein-based cell-cell fusion assay Antimicrob. Agents. Chemother., 60 (2016), pp. 6532-6539.
17. Roberto Maggio 1, Giovanni U Corsini. Repurposing the Mucolytic Cough Suppressant and TMPRSS2 Protease Inhibitor Bromhexine for the Prevention and Management of SARS-CoV-2 Infection. Pharmacol Res 2020;22(157):104837.
18. OP Zhimov, HD Klenk, PF Wright. Aprotinin and similar protease inhibitors as drugs against influenza. Antivir Res 2011;92:27-3.
19. E Bottcher, DA Stein, HD Klenk, W. Garten, Inhibition of influenza virus infection in human airway cell cultures by an antisense peptide-conjugated morpholino oligomer targeting the hemagglutinin-activating protease. TMPRSS2. J Virol 2011;85:1554e1562.
20. Montopoli M, Zumerle S, Vettor R, Rugge M, Zorzi M, Catapano CV, Carbone GM, Cavalli A, Pagano F, Ragazzi E, Prayer-Galetti T, Alimonti A. Androgen-deprivation therapies for prostate cancer and risk of infection by SARS-CoV-2: a population-based study (n=4532). Ann Oncol 2020 May 4. pii: S0923-7534(20)39797-0. doi: 10.1016/j.annonc.2020.04.47.