Réponse innée et physiopathologie de la Covid-19

Benjamin Terrier, MD, PhD

Service de Médecine Interne, Hôpital Cochin

PARCC, INSERM U970

Liens d'intérêt

- **Boards :** Roche, Chugaï, LFB, Grifols, AstraZeneca, Vifor Pharma
- **Consultations :** Roche, Chugaï, LFB, Grifols, GSK, AstraZeneca
- **Frais de déplacement/congrès :** Roche, LFB, Grifols, Octapharma, GSK, Janssen

Histoire naturelle de la Covid-19

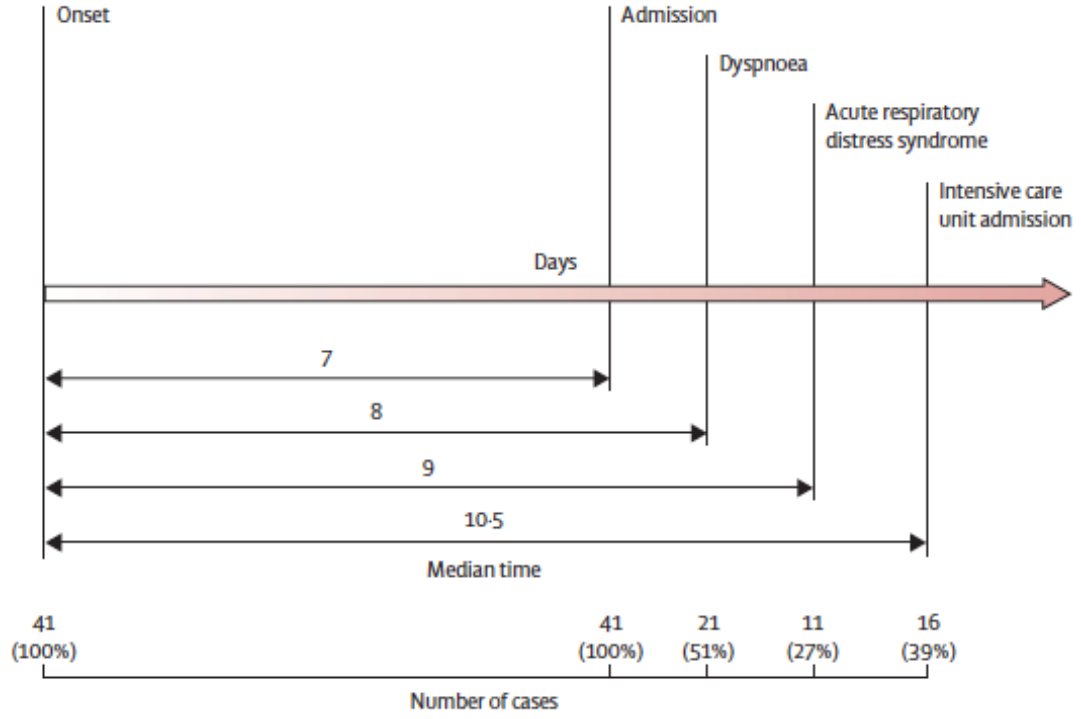
Description des premiers cas d'infection par le SARS-CoV-2 (Covid-19) ayant rapidement montré différents "patterns" de progression de la maladie

- **95%** des patients présentant une **maladie faible à modérée**
- **<5%** évoluant vers une **forme sévère à critique**, avec syndrome de détresse respiratoire aigue

Admission en unités de soins intensifs avec recours à la ventilation mécanique ou décès rapportée dans 6,1% des cas initiaux en Chine

Taux de mortalité en France de 0,53%

Evolution « classique » en 2 phases, avec présentation initiale modérée, suivie d'une possible aggravation respiratoire vers J9-J12



Huang, Lancet, 2020

La maladie à SARS-Cov-2 (Covid-19)

Données cliniques suggérant l'existence de processus pathologiques intriqués dans les formes sévères de Covid-19 :

Dommage alvéolaire diffus

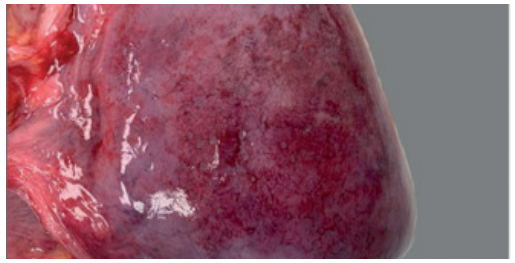
Thrombose

Activation macrophagique

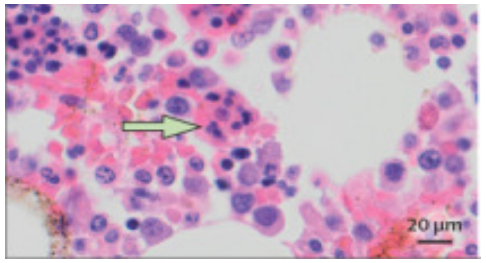
Déplétion des cellules immunitaires adaptatives

Hanley, Lancet Microbe, 2020
Desai, MedRxiv, 2020

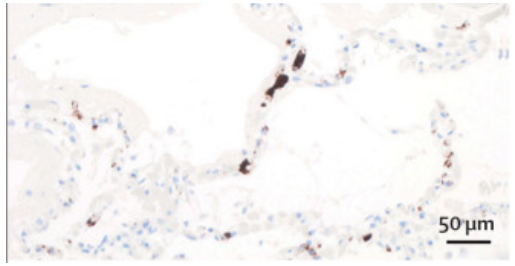
Pétéchies hémorragiques sous-pleuraux



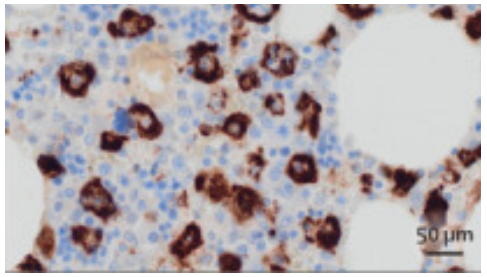
Phagocytose par les macrophages dans la moelle osseuse



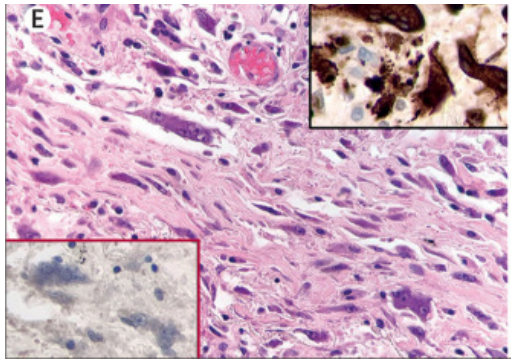
Thrombi plaquettaires CD61+ dans les capillaires alvéolaires



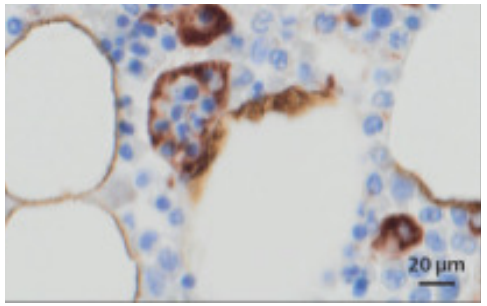
Présence de macrophages CD68+ dans la moelle osseuse



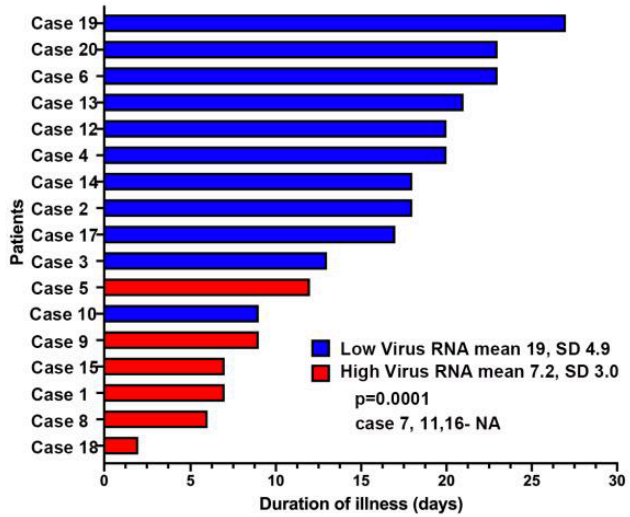
Cellules macrophagiques CD68+



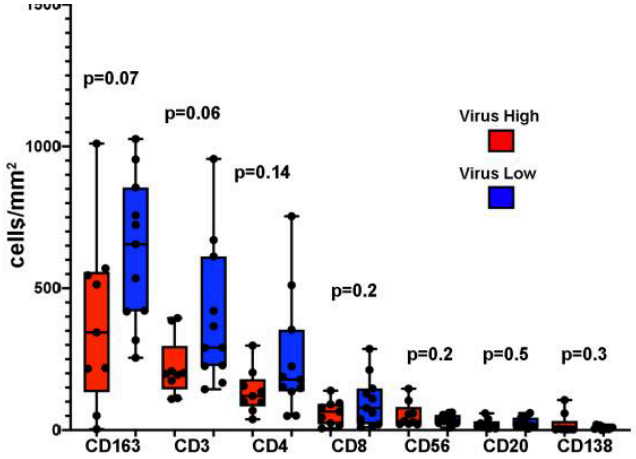
Présence de macrophages CD68+ dans la moelle osseuse



Charge virale tissulaire par RNA-ISH

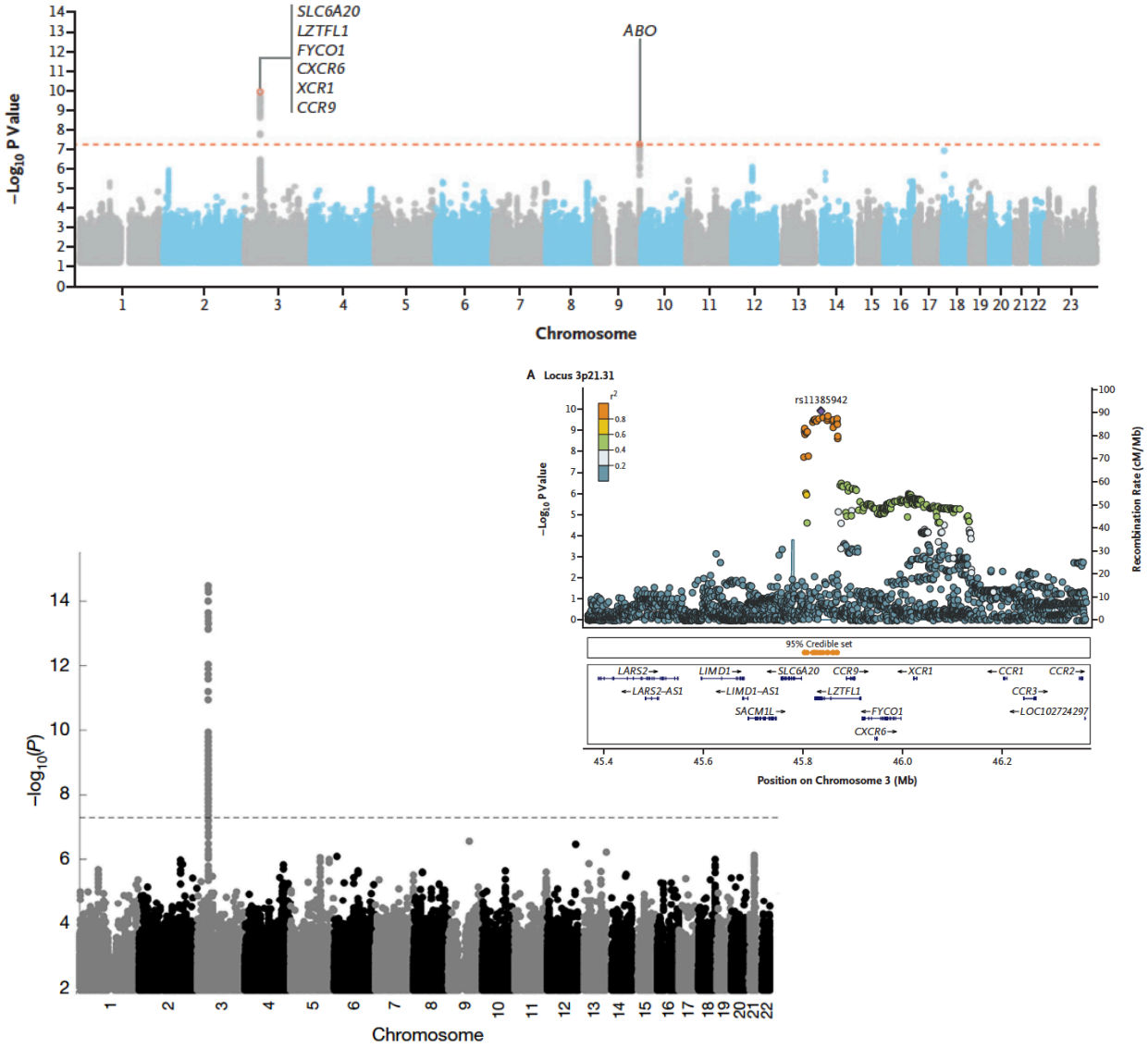


Quantification des cellules immunes dans les poumons



Prédisposition génétique de gènes de l'immunité favorisant les formes graves de Covid-19

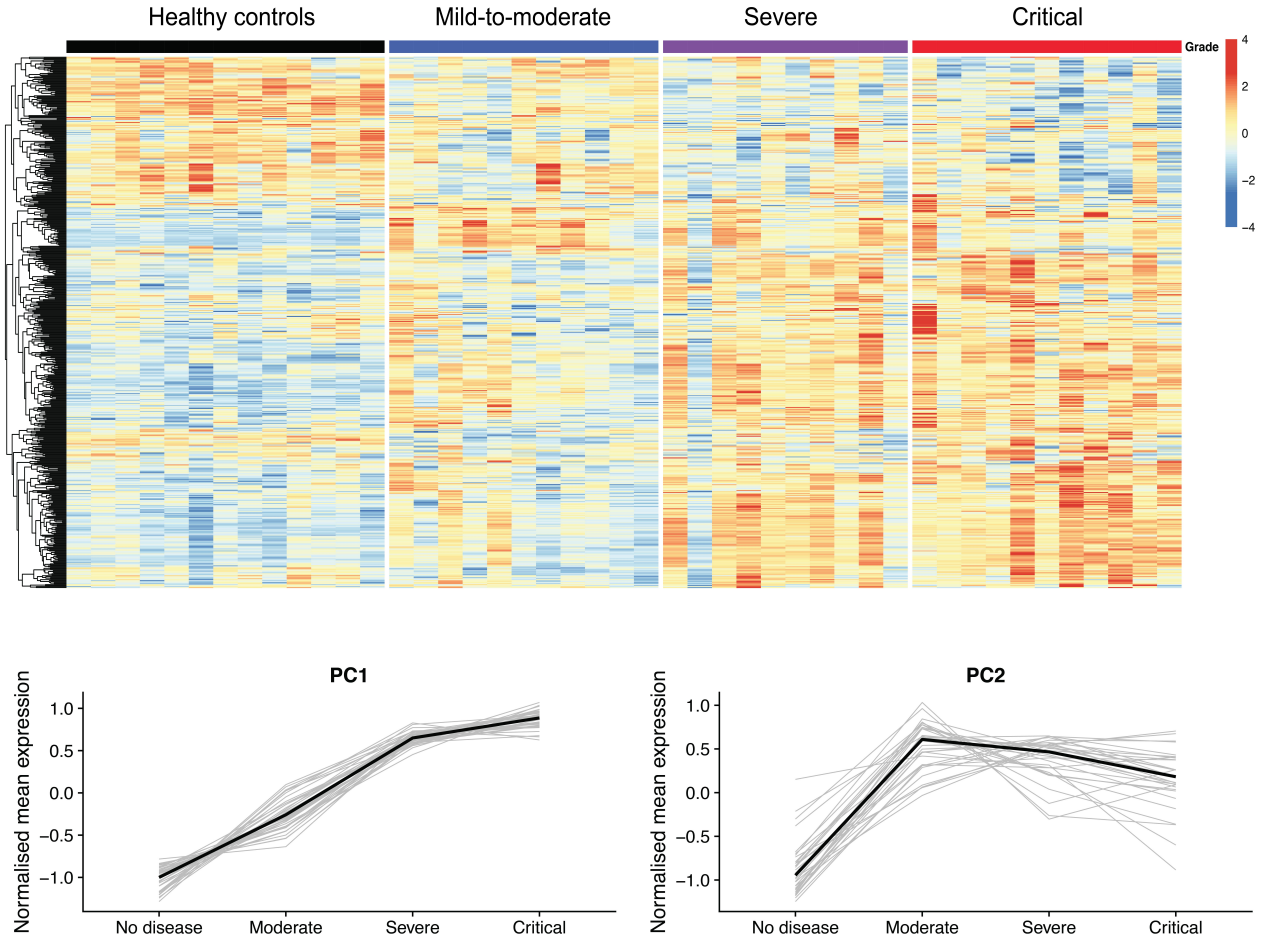
Etude GWAS sur 1980 patients atteints de Covide-19 sévère en Italie et Espagne
Association des formes sévères avec le locus 3p21.31 recouvrant les gènes *SLC6A20*, *LZTFL1*, *CCR9*, *FYCO1*, *CXCR6* et *XCR1*
Confirmation du locus par l'étude «COVID-19 Host Genetics Initiative» portant sur 3199 patients
Risque conféré par un segment d'environ 50 kb hérité de Néandertal



Severe Covid-19 GWAS group, NEJM, 2020
Zeberg, Nature, 2020

Altération de l'activité IFN de type I et réponses inflammatoires exagérées chez les patients sévères

Identification de gènes exprimés différentiellement dans le sang périphérique en fonction des degrés de gravité de la Covid-19
Analyse en composante principale non supervisée selon le degré de sévérité
PC1, enrichie en gènes codant pour les réponses immunes innées et inflammatoires (TLR, TNF, …)
PC2, enrichie en gènes codant pour les réponses interférons (IFN) de type I and type II

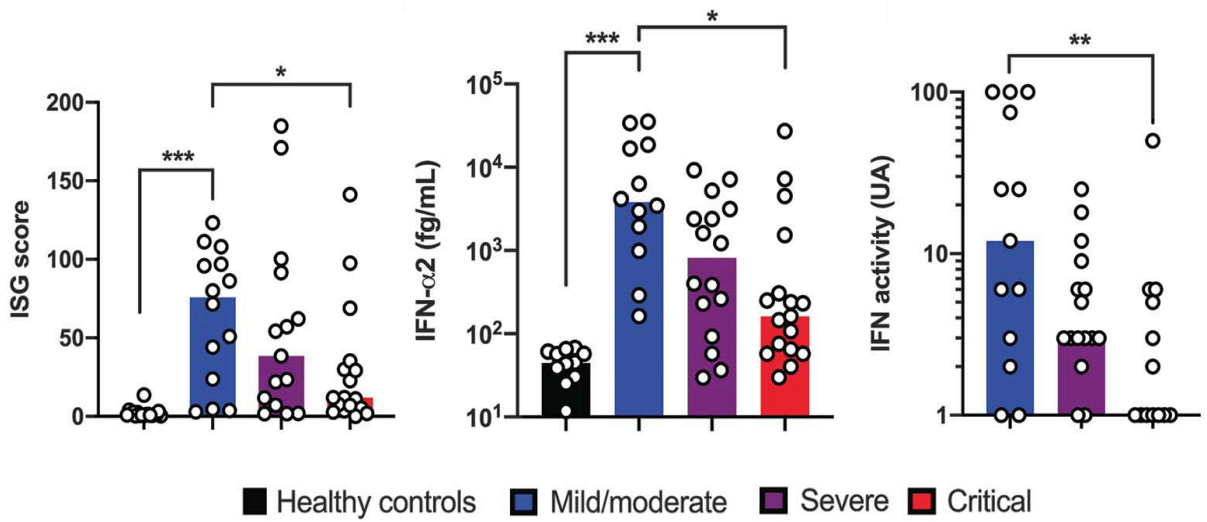


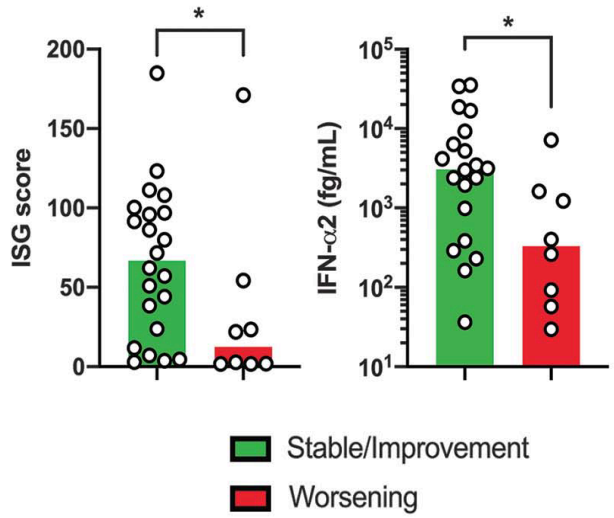
Hadjadj, Science, 2020

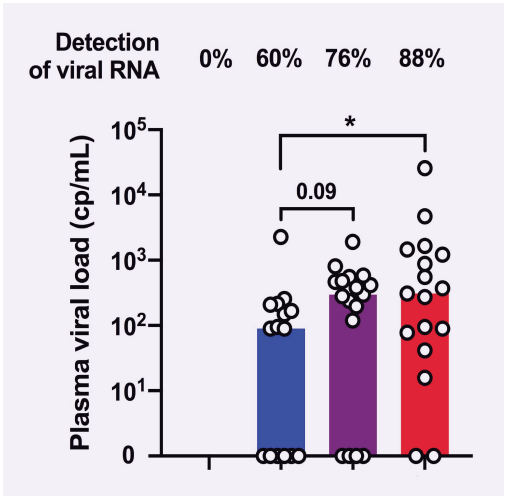
Défaut d'activité IFN de type I chez les patients sévères et critiques

Diminution de l'ISG score, des taux d'IFN-α2 dans le plasma et de l'activité IFN chez les patients les plus sévères, comparativement aux formes modérés
Absence de détection d'IFN-β
Défaut d'activité IFN de type 1 précédant la détérioration clinique

Augmentation de la charge virale plasmatique chez les patients graves et critiques, conséquence possible du défaut de production d'IFN





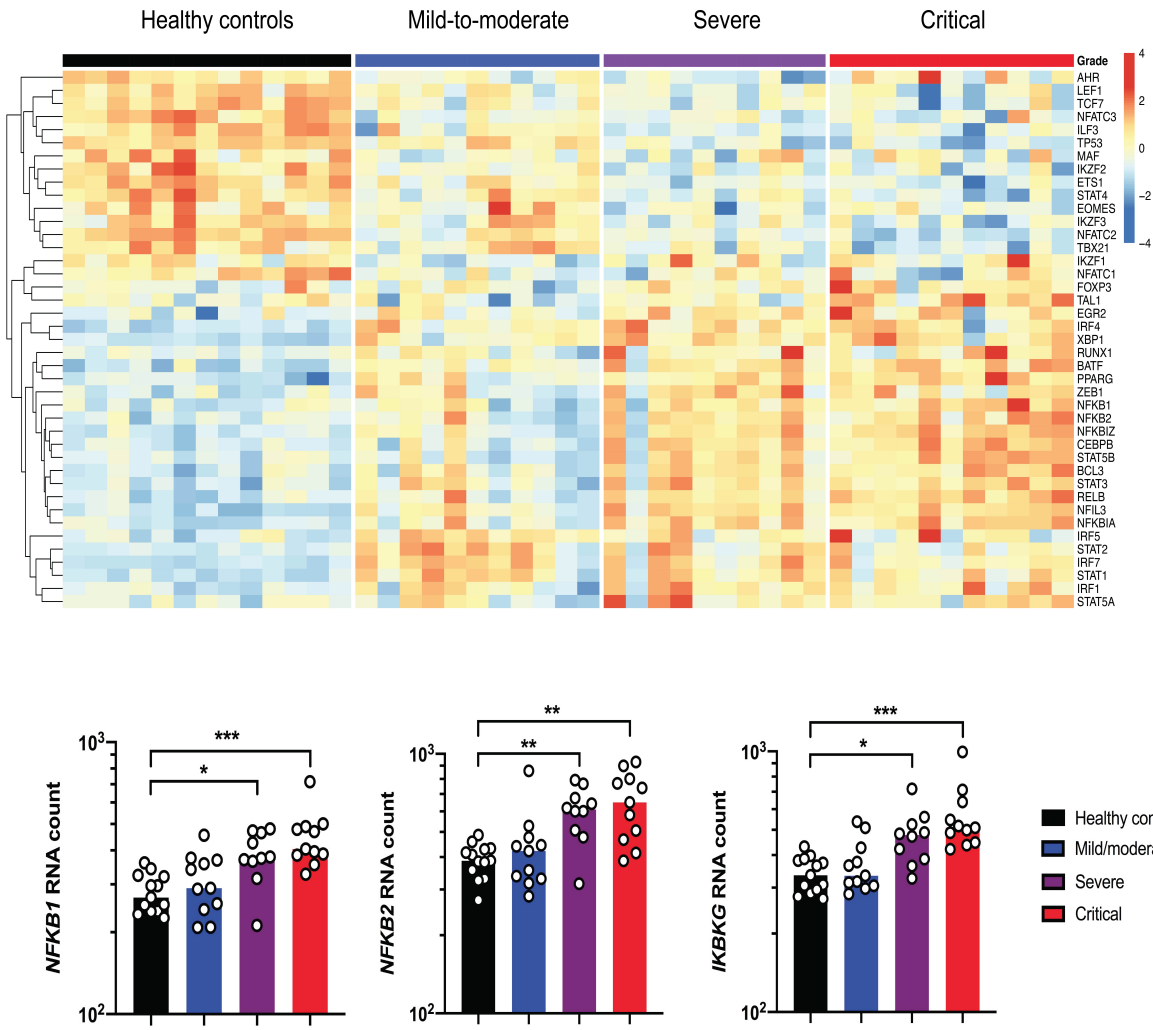


Hadjadj, Science, 2020

Dissection des mécanismes de l'hyperinflammation chez les patients sévères et critiques

Franche augmentation de l'expression des gènes appartement à la voie NFkB chez les patients sévères et critiques

Activation aberrante de la voie NFkB pouvant résulter d'une activation excessive des « senseurs » de l'immunité innée, en particulier PAMP et/ou DAMP (par exemple, libérés par les cellules nécrotiques et les lésions tissulaires)



Hadjadj, Science, 2020

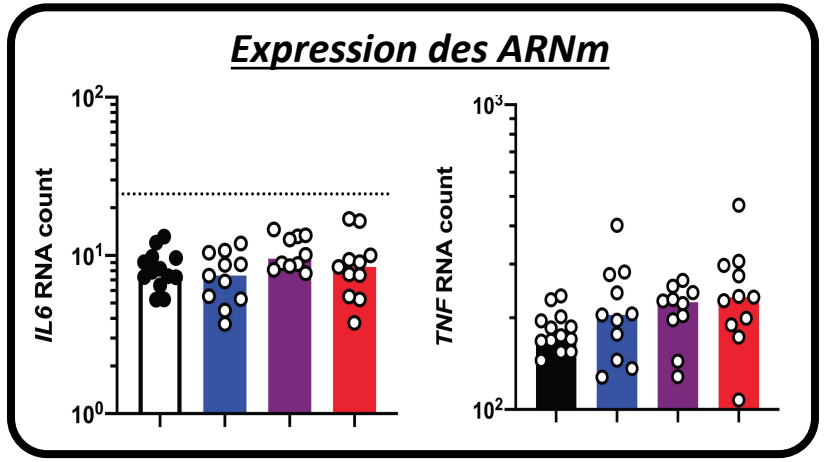
Dissection des mécanismes de l'hyperinflammation chez les patients sévères et critiques

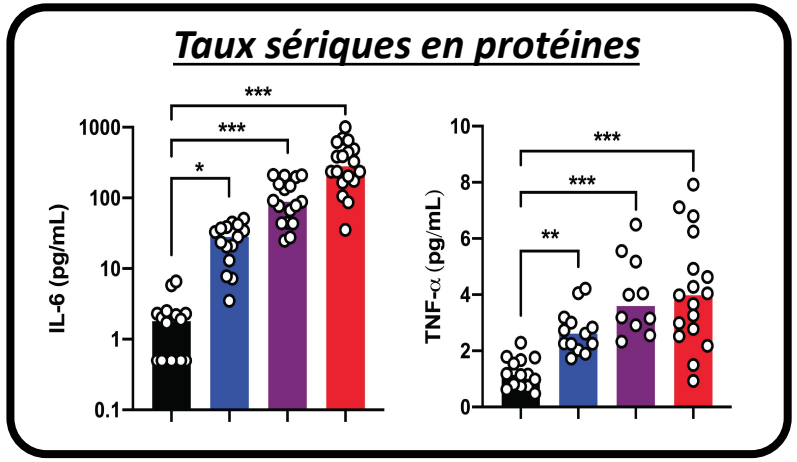
IL-6 non détectée et TNF-α seulement modérément dans le sang périphérique au niveau transcriptionnel, contrastant avec des niveaux élevés en protéines

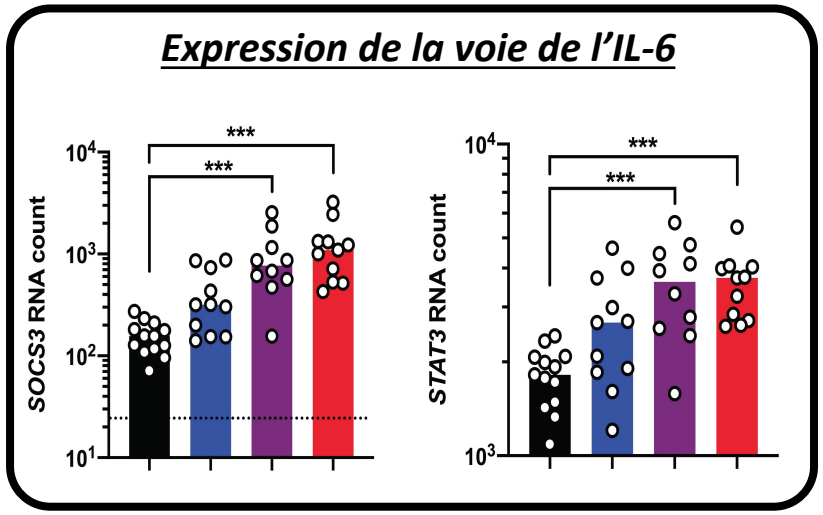
Expression des gènes IL6R, SOCS3 et STAT3 reflétant l'**activation de la voie de signalisation de l'IL-6**

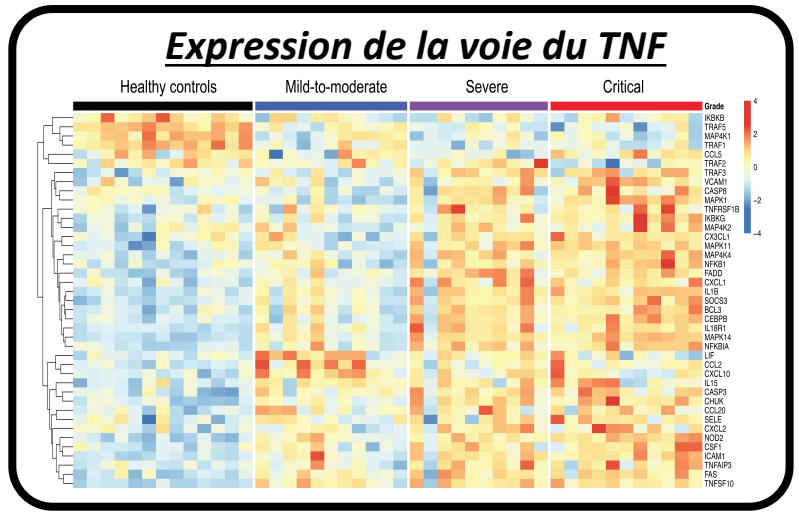
Expression augmentée des gènes de la voie du TNF, dont TNFSF10 (TRAIL), jouant un **rôle important dans le processus de mort cellulaire**

Différences entre ARNm et protéines ➡️ **sources = poumons lésés ? cellules endothéliales ?**





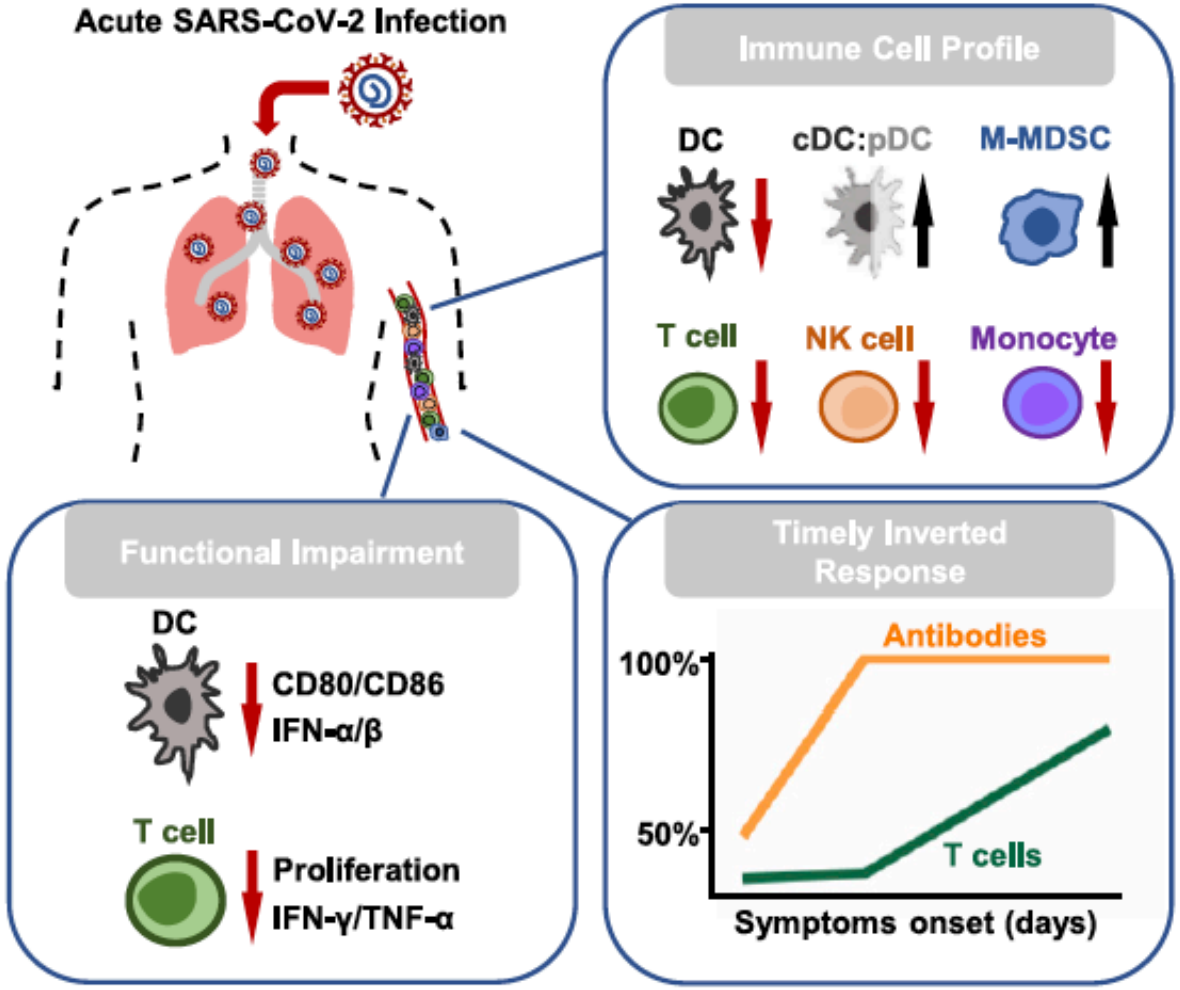




Défaut d'activité IFN de type I lié à un déficit quantitatif et fonctionnel des cellules dendritiques

Infection aiguë par le SARS-CoV-2 induisant une diminution de nombreux types cellulaires, d'autant plus marquée chez les sévères :

- **Déficit quantitatif et fonctionnel des cellules dendritiques plasmacytoïdes avec défaut de maturation et diminution de la production d'IFN de type 1**
- *Déficit quantitatif et fonctionnel des lymphocytes T CD4 et CD8*
- *Maintien d'une réponse rapide par des anticorps neutralisants*



Zhou, Immunity, 2020

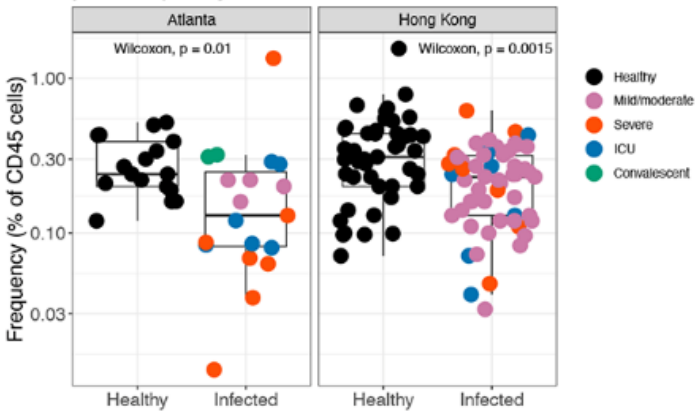
Défaut de production d'IFN-α par les pDC et augmentation des cytokines pro-inflammatoires

Mise en évidence chez les patients atteints de COVID-19 :

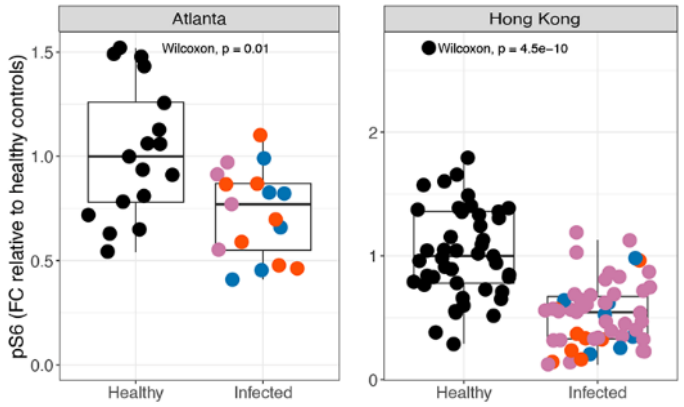
- **Défaut de signalisation de mTOR et de production d'IFN-α par les cellules dendritiques plasmacytoïdes mis en évidence par CyTOF sur le sang**

- Augmentation de la production des cytokines plasmatiques pro-inflammatoires (IL-6, TNF-α, EN-RAGE, TNFSF14), corrélée à la sévérité de la maladie

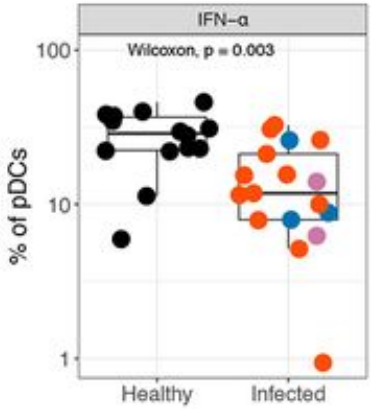
% of pDCs



% pDCs S6RP+



% pDCs IFN-α+



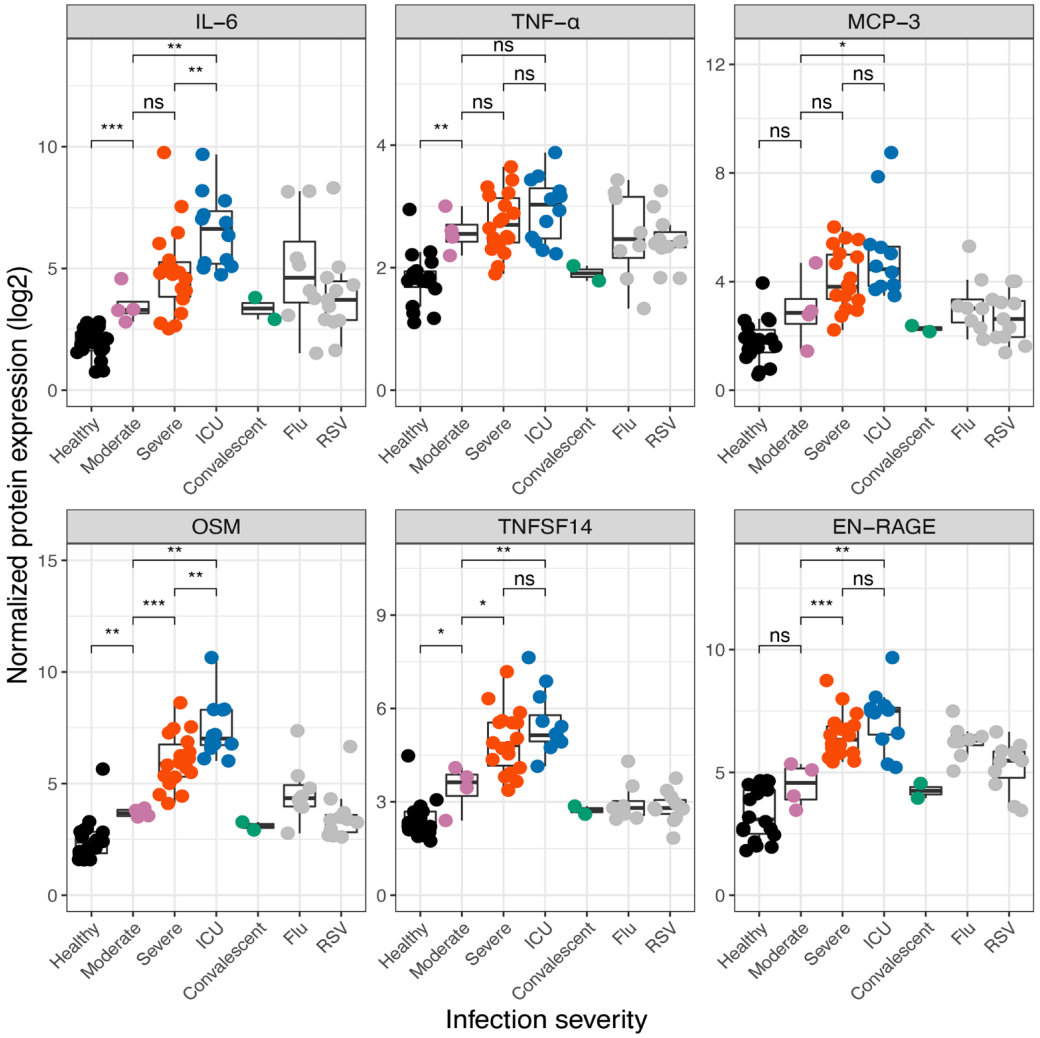
Arunachalam, Science, 2020

Défaut de production d'IFN-α par les pDC et augmentation des cytokines pro-inflammatoires

Mise en évidence chez les patients atteints de COVID-19 :

- Défaut de signalisation de mTOR et de production d'IFN-α par les cellules dendritiques plasmacytoïdes mis en évidence par CyTOF sur le sang

- **Augmentation de la production des cytokines plasmatiques pro-inflammatoires (IL-6, TNF-α, EN-RAGE, TNFSF14), corrélée à la sévérité de la maladie**

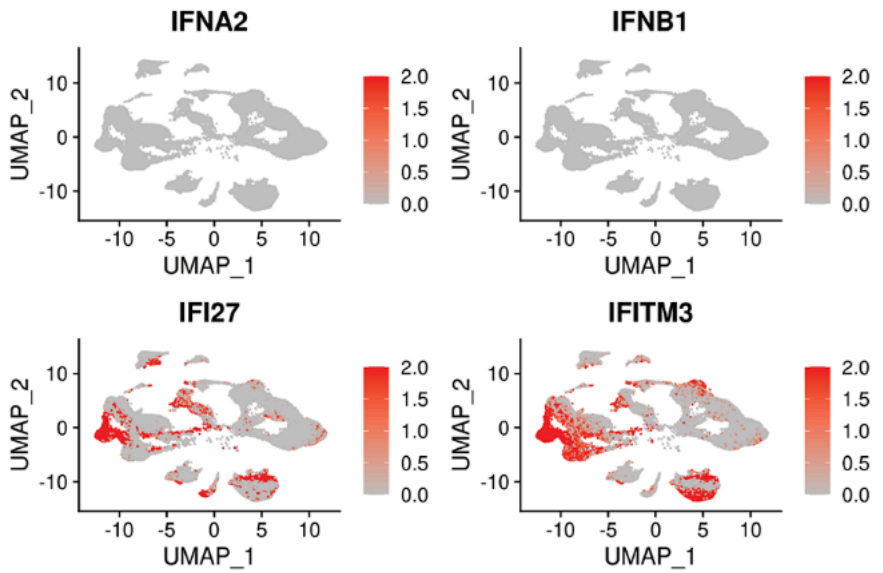


Arunachalam, Science, 2020

Défaut de production d'IFN-α par les pDC et augmentation des cytokines pro-inflammatoires

Single cell-RNA sequencing du sang périphérique révélant chez les patients sévères

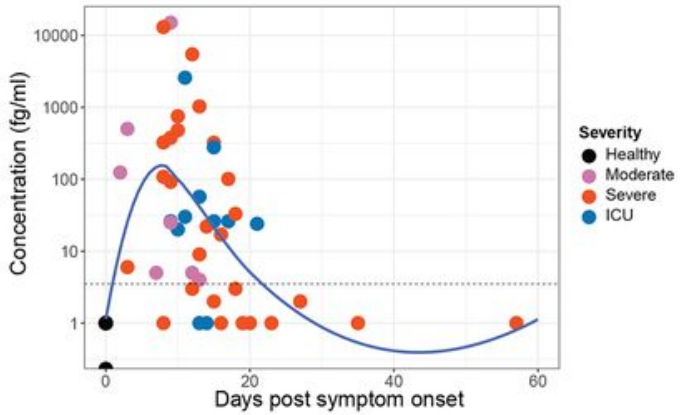
- Défaut de réponse IFN de type I
- Expression transitoire des gènes stimulés par l'IFN (ISG)
- Résultats comparables avec analyse transcriptomique globale des PBMCs



CITE-seq des PBMCs de la Covid-19

Faible taux d'IFN-α chez les patients sévères (effet bystander dans le poumon ?)

Dosage cinétique du IFN-a plasmatique

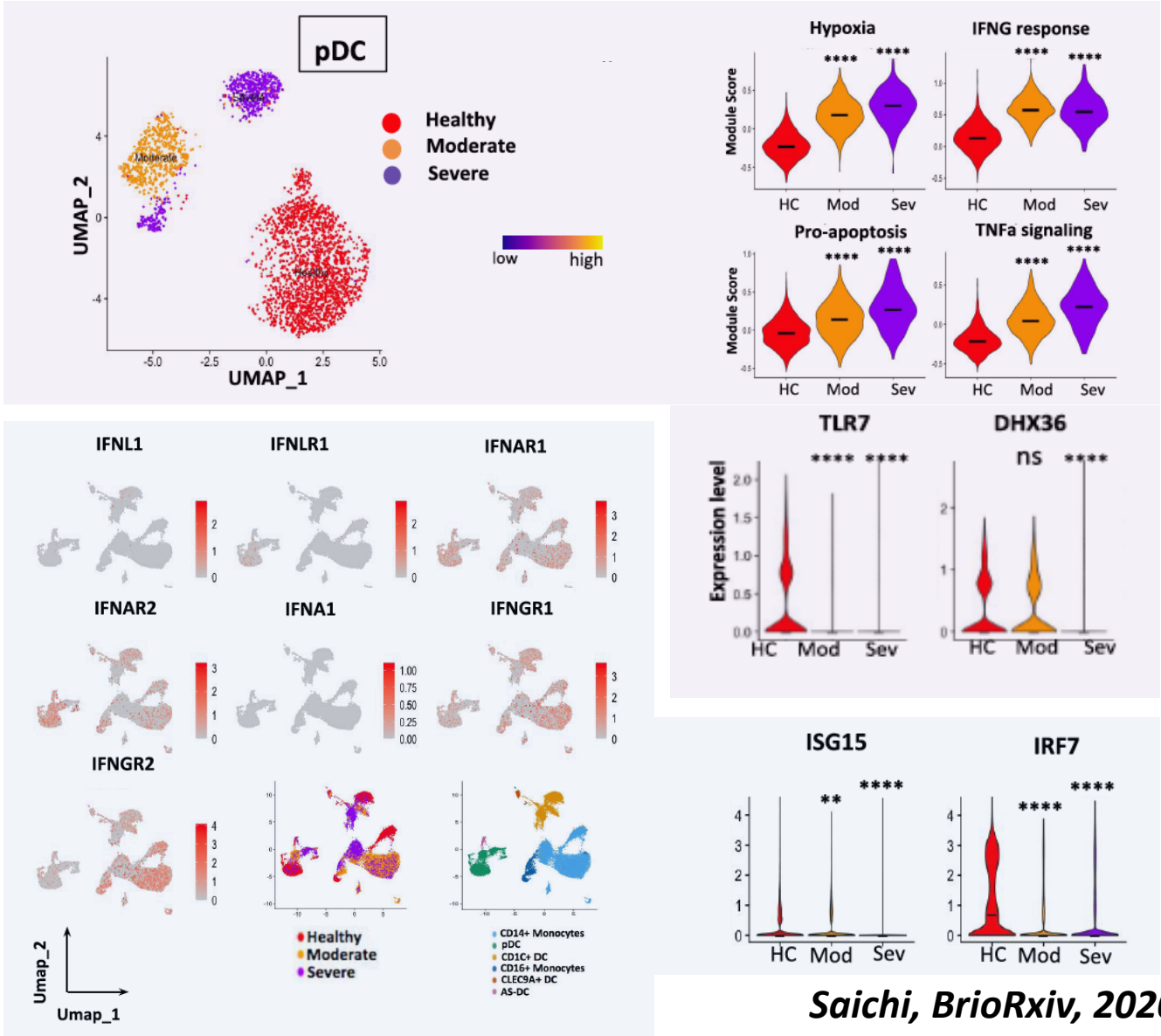


Arunachalam, Science, 2020

Défaut d'immunité antivirale des cellules présentatrices d'antigènes

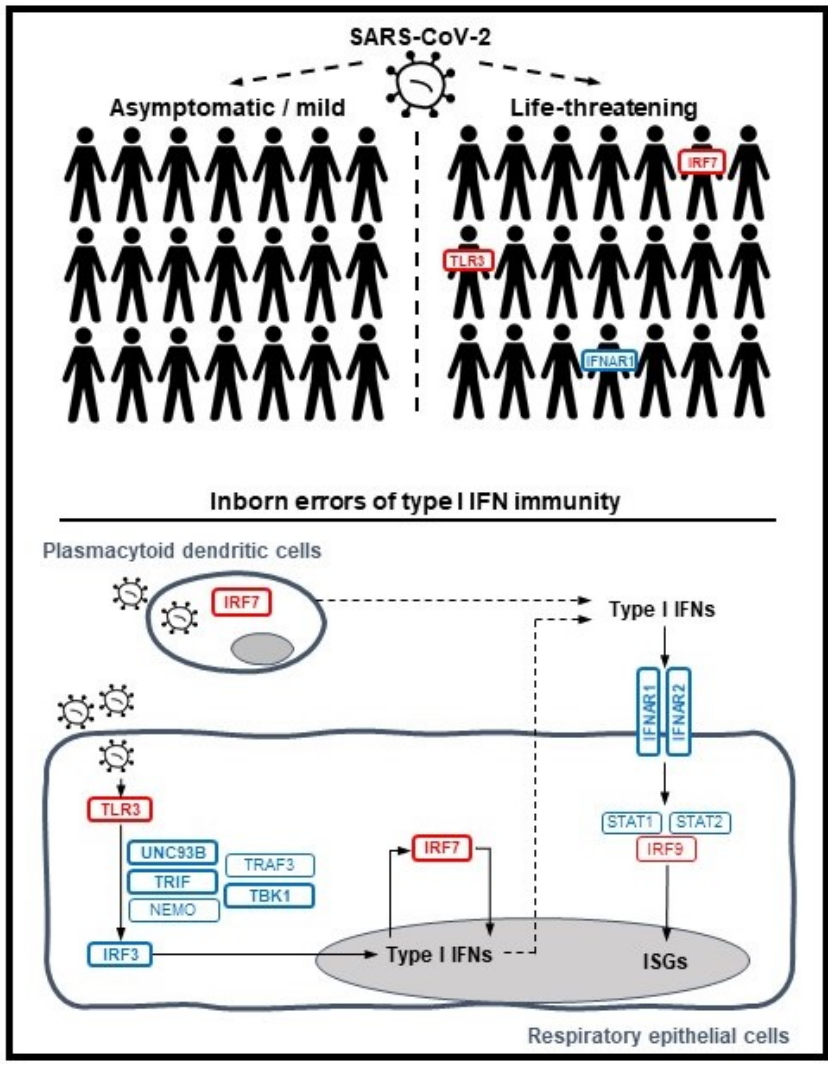
Single-cell RNA sequencing des APC de 7 patients avec forme modérée ou sévère de Covid-19
Mise en évidence de défauts dans l'immunité antivirale :

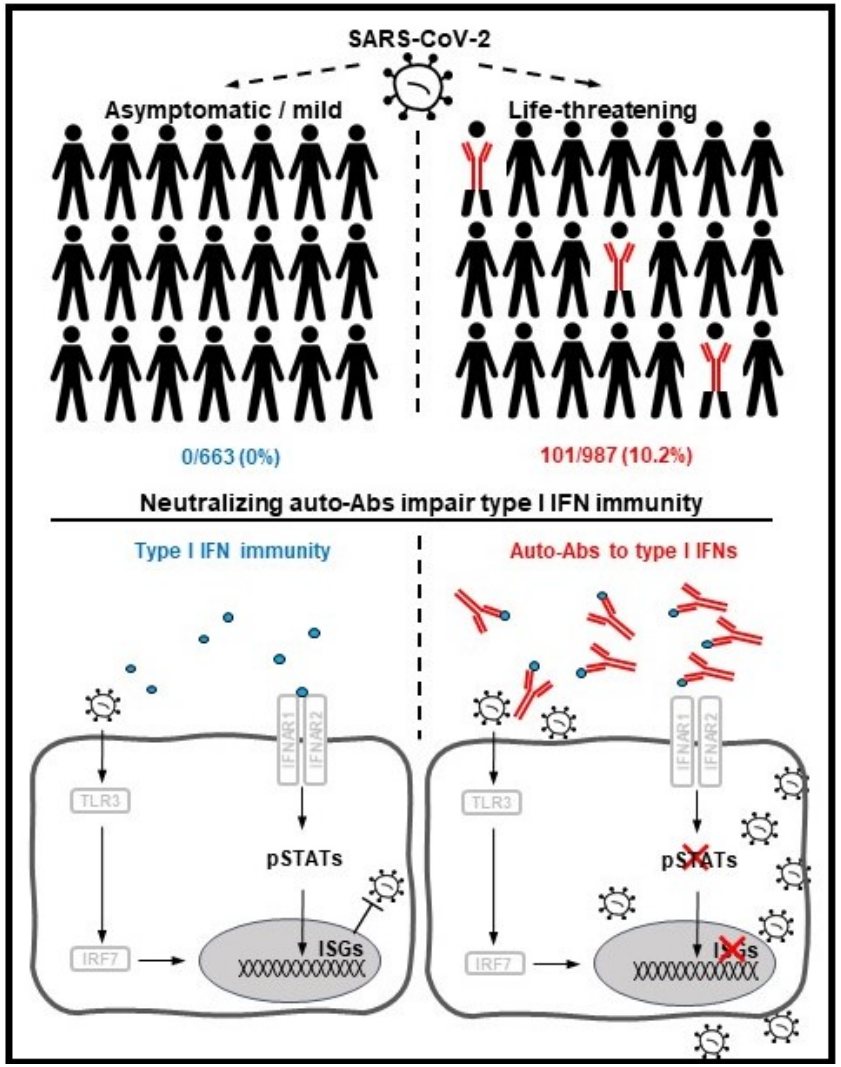
- **Augmentation des gènes pro-apoptotiques exclusivement dans les pDC**
- **Forte diminution des senseurs de l'immunité innée (TLR7 dans le pDC et DHX9 dans les cDC1)**
- **Diminution des molécules antivirales effectrices (ISG)**
- **Diminution du CMH de classe II**



Saichi, BrioRxiv, 2020

Mécanismes à l'origine du défaut d'activité antivirale IFN de type 1 au cours de la Covid-19





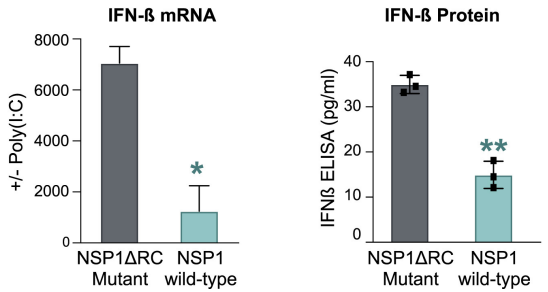
Zhang, Science, 2020

Bastard, Science, 2020

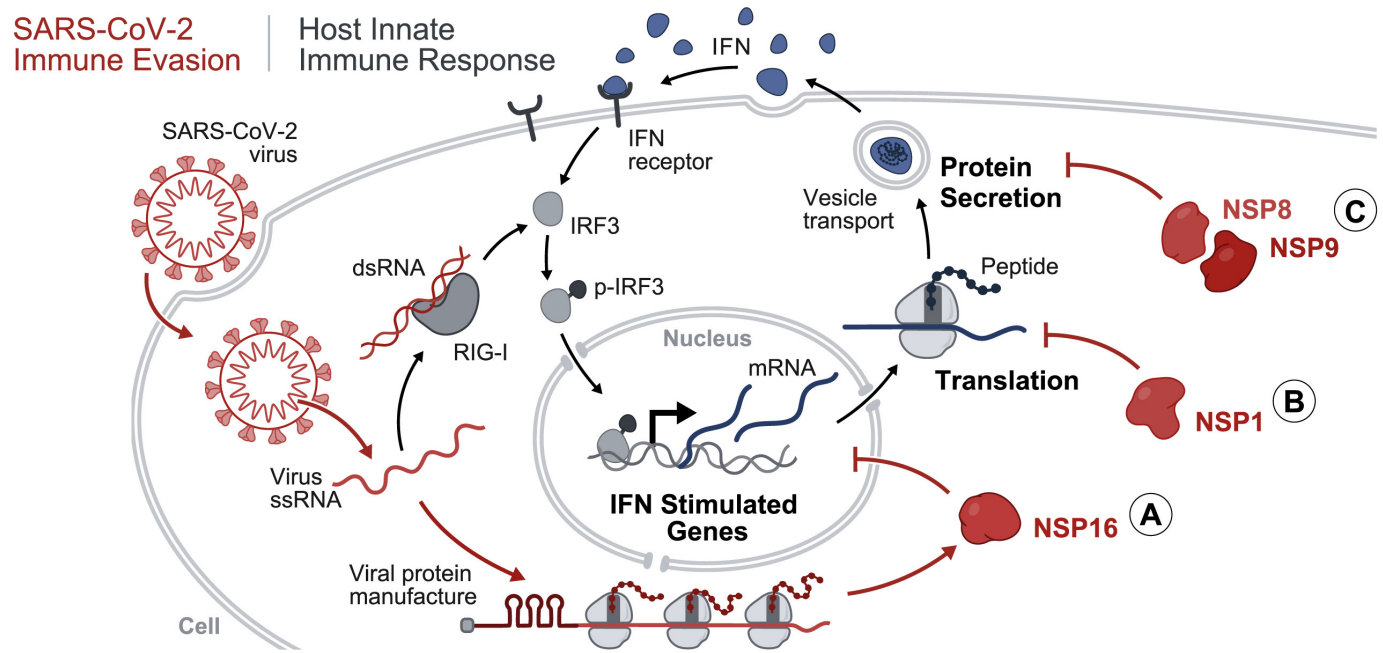
Suppression de la production des protéines impliquées dans la réponse interféron induite par le SARS-CoV-2

Etude de l'interaction des protéines virales et les ARN humains:

- **NSP16 diminue l'épissage des ARNm**
- **NSP1 se fixe à l'ARN ribosomal 18S et diminue la traduction des ARNm**



- **NSP8 et NSP9 diminue le trafic des protéines membranaires**



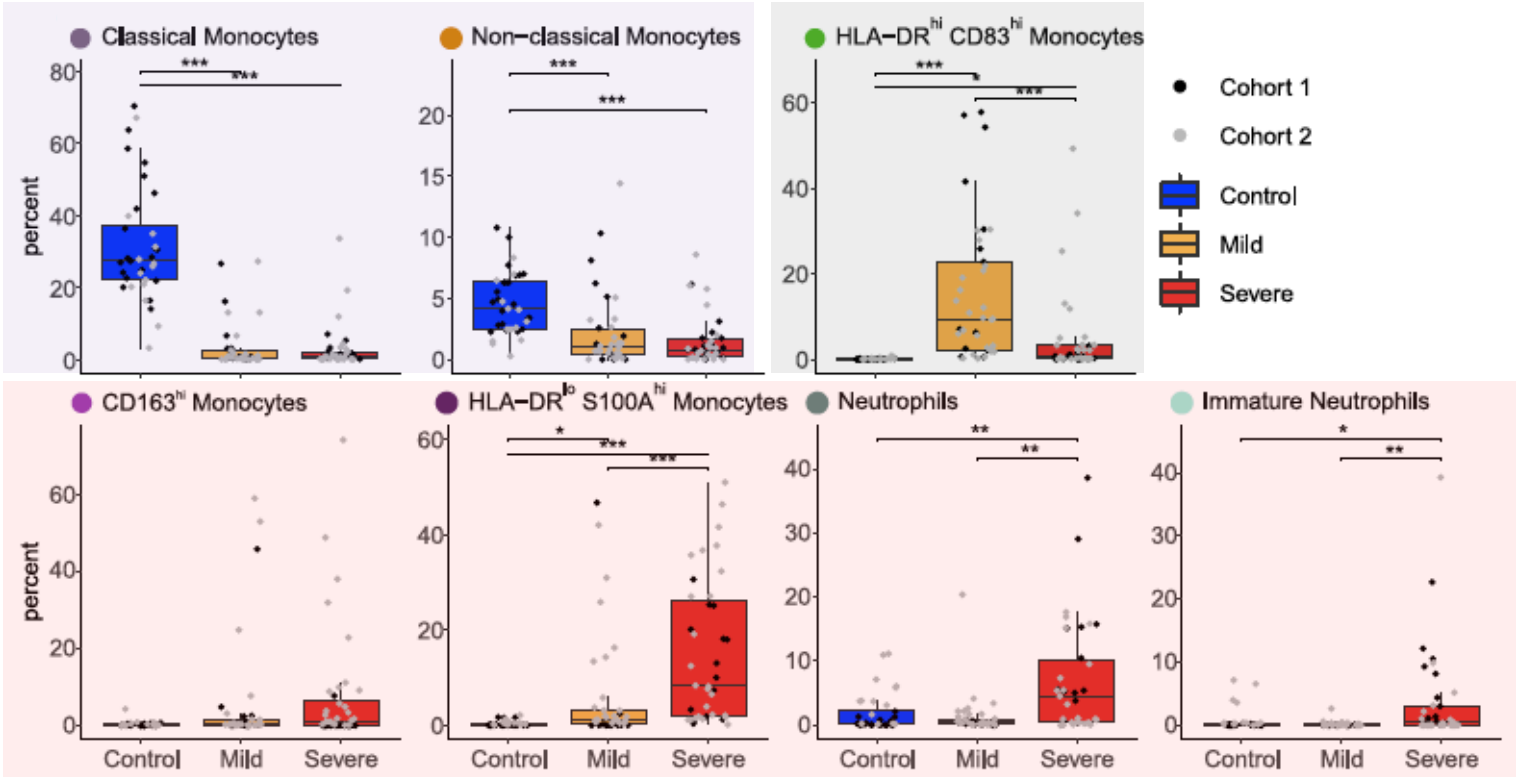
Perturbations de ces étapes diminuant la réponse IFN de type 1 à l'infection virale

Banerjee, Cell, 2020

Sévérité de la maladie associée à une perturbation du compartiment myéloïde

Infection par le SARS-CoV-2 induisant des perturbations du compartiment myéloïde avec :

- **Induction de monocytes activés inflammatoires CD14+ HLA-DR^{hi} CD83^{hi} CD11c^{hi}** exprimant une signature interféron **dans les formes modérées**



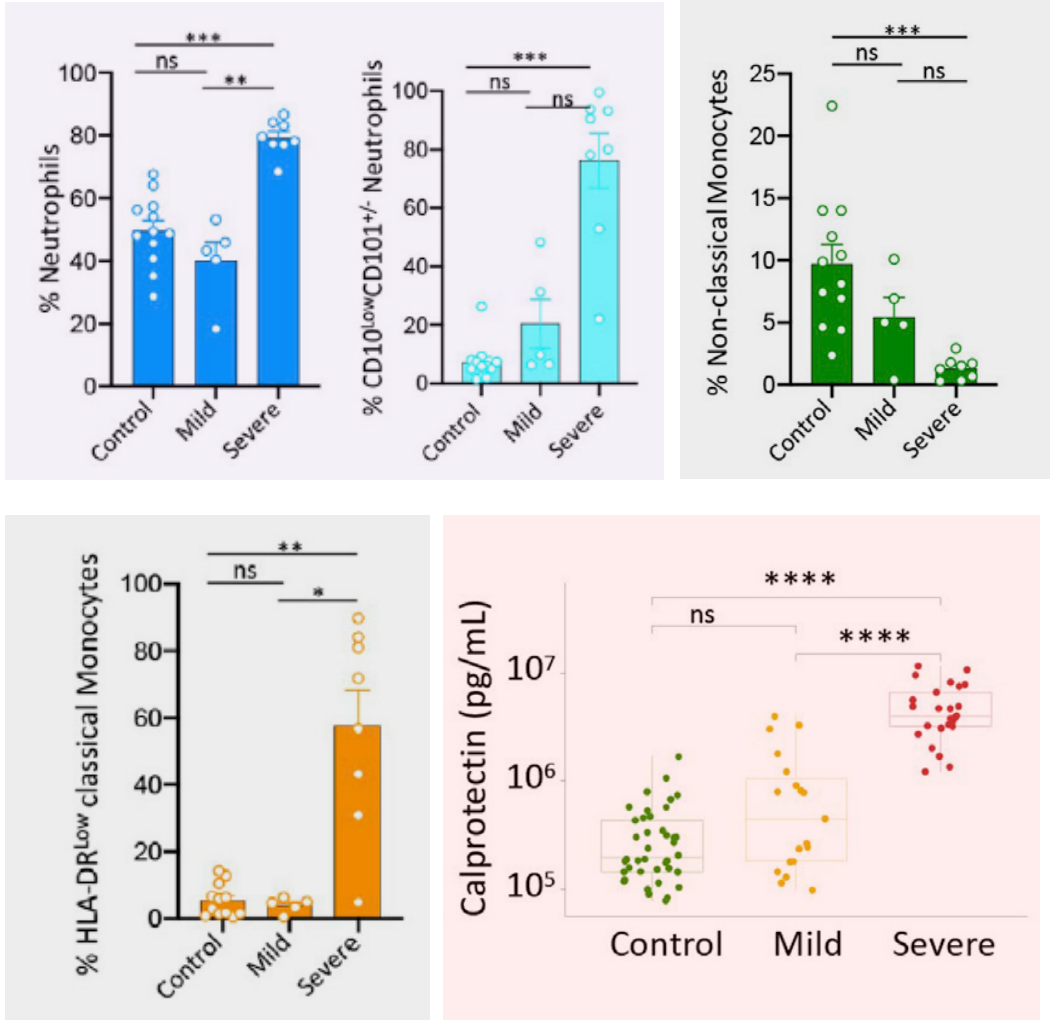
- **Induction d'une myélopoïèse « d'urgence » dans les formes sévères, caractérisée par des neutrophiles immatures et dysfonctionnels** CD62L- PD-L1+**, et des monocytes classiques dysfonctionnels CD14+ HLA-DR^{lo} CD163^{hi} et exprimant fortement les alarmines S100A**

Schulte-Schrepping, Cell, 2020

Sévérité de la maladie associée à une perturbation du compartiment myéloïde et une calprotectine élevée

Etude par cytométrie en flux et single cell-RNA sequencing des cellules du sang périphérique de patients infectés par le SARS-CoV-2, avec **formes sévères de Covid-19 caractérisées par** :

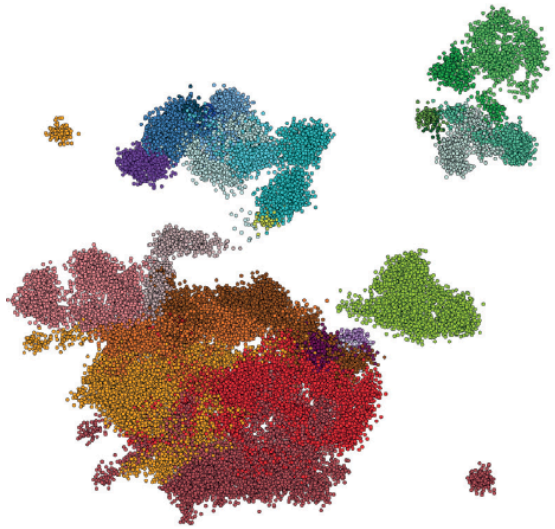
- **Libération de neutrophiles immatures CD10^{lo} CD101- avec un profil immunosuppresseur dans le sang et les poumons, suggérant une myélopoïèse d'urgence**
- **Forte diminution des monocytes non-classiques CD14^{lo} CD16^{hi}, et accumulation de monocytes classiques HLA-DR^{lo}**
- **Libération de grandes quantités de calprotectine (S100A8/S100A9)**



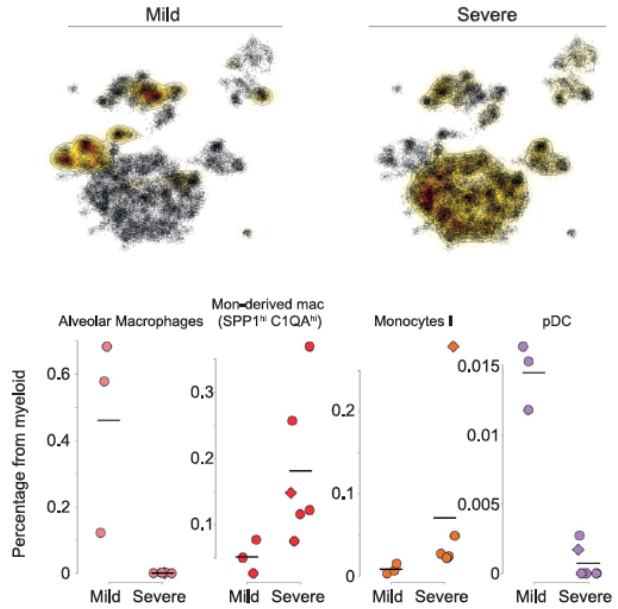
Sivlin, Cell, 2020

Distinction des perturbations des cellules infectées et des cellules adjacentes dans les poumons

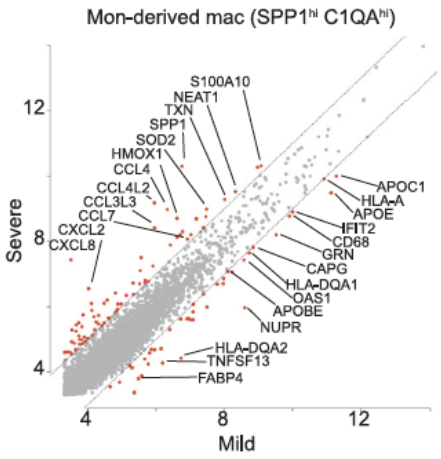
Grande diversité du compartiment myéloïde chez les patients Covid-19



Enrichissement de macrophages alvéolaires et pDC chez les patients modérés, contrastant avec une accumulation de neutrophiles, monocytes FCN1+ et macrophages SPP1+ dérivés de monocytes chez les sévères



Comparaison d'expression génique dans le compartiment myéloïde montrant entre une up-régulation des gènes des chimiokines inflammatoires dans les macrophages SPP1+, ainsi qu'une baisse d'expression des gènes des IFN de type 1



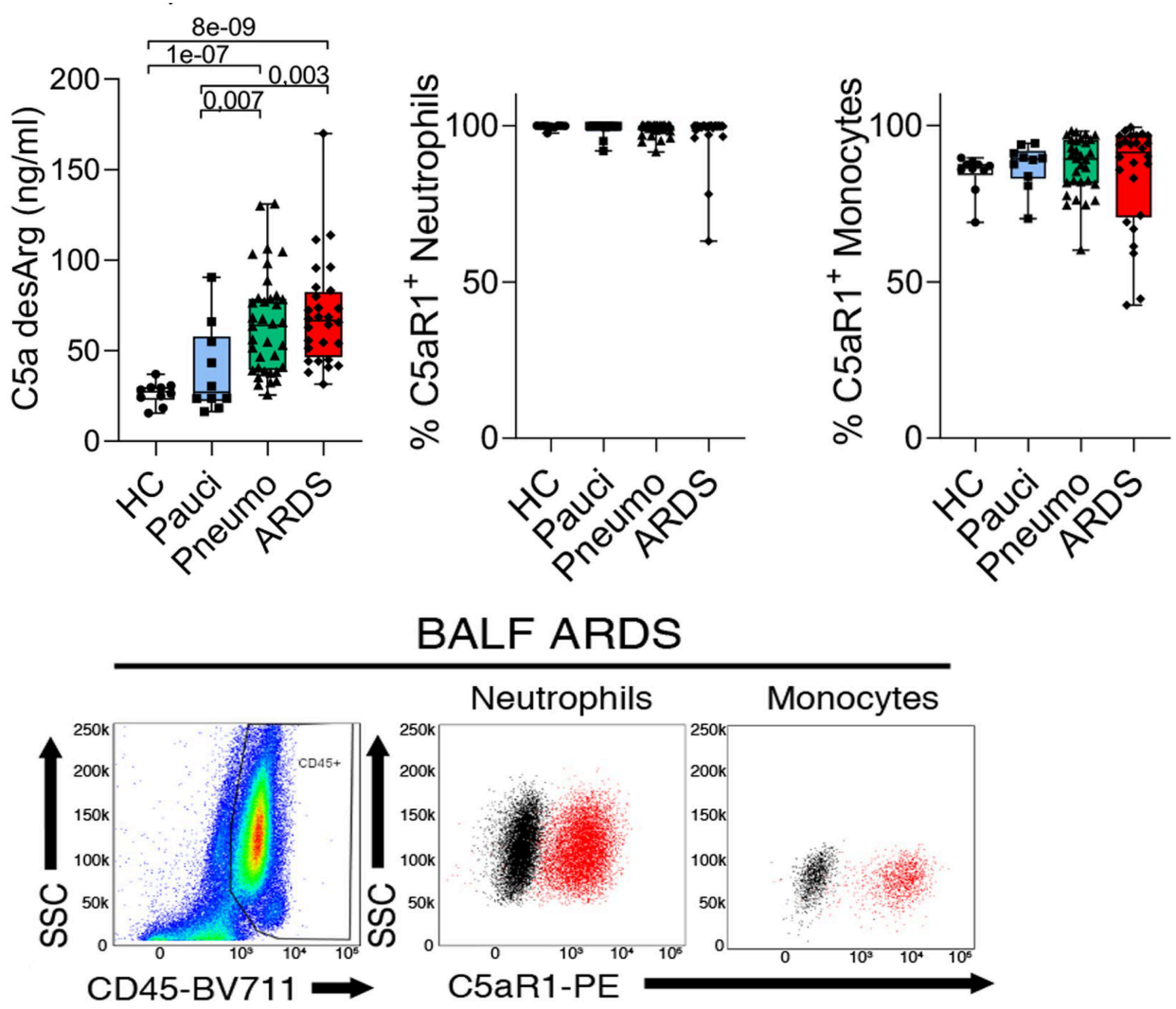
Bost, Cell, 2020

Implication de l'axe C5a-C5aR1 dans la réponse inflammatoire liée au Covid-19

Anaphylatoxine C5a jouant un rôle dans l'initiation et le maintien des réponses inflammatoires en se fixant sur son récepteur C5aR1, et en recrutant et activant les neutrophiles et les monocytes

Dans la Covid-19 :

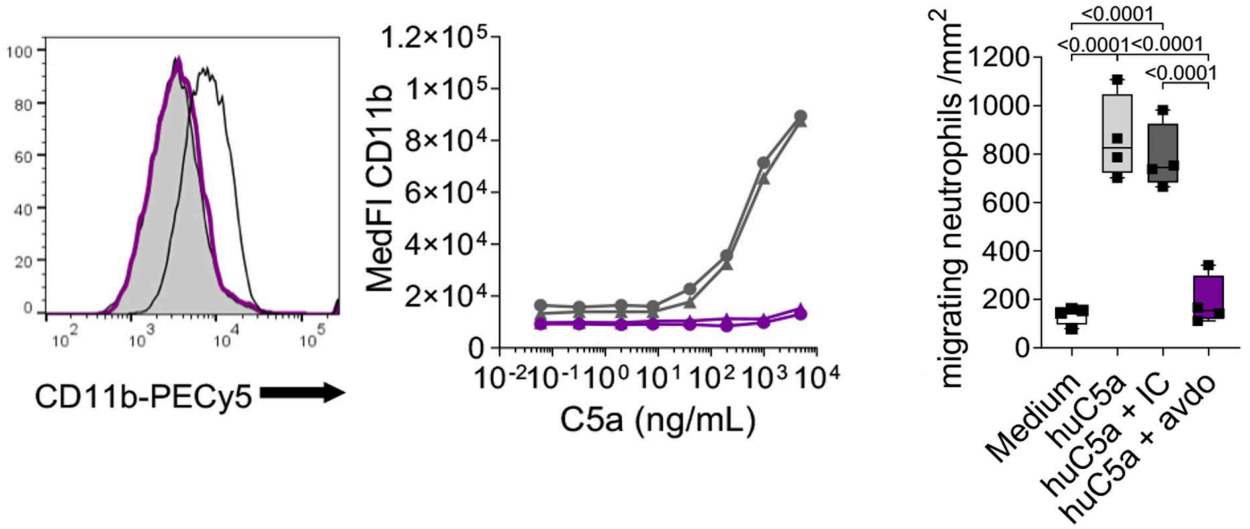
- **Augmentation du C5a soluble (C5a desArg) sérique corrélée à la sévérité de la Covid-19**
- **Expression du C5aR1 sur les cellules myéloïdes dans le sang et les poumons**



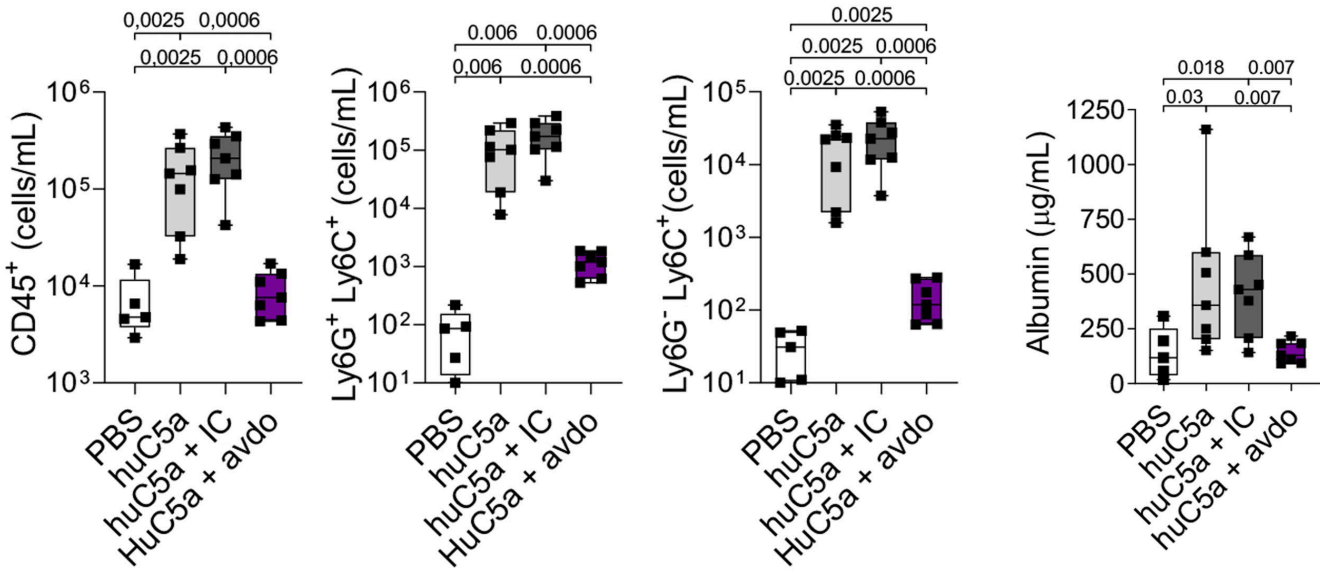
Carvelli, Nature, 2020

Implication de l'axe C5a-C5aR1 dans la réponse inflammatoire liée au Covid-19

Anticorps anti-C5aR1 (avdorilumab) empêchant l'activation (expression de CD11b) et la migration des neutrophiles par le C5a



Anticorps anti-C5aR1 inhibant le recrutement des cellules myéloïdes (neutrophiles et monocytes) après induction de lésions pulmonaires aiguës par le C5a chez des souris knockin C5aR1

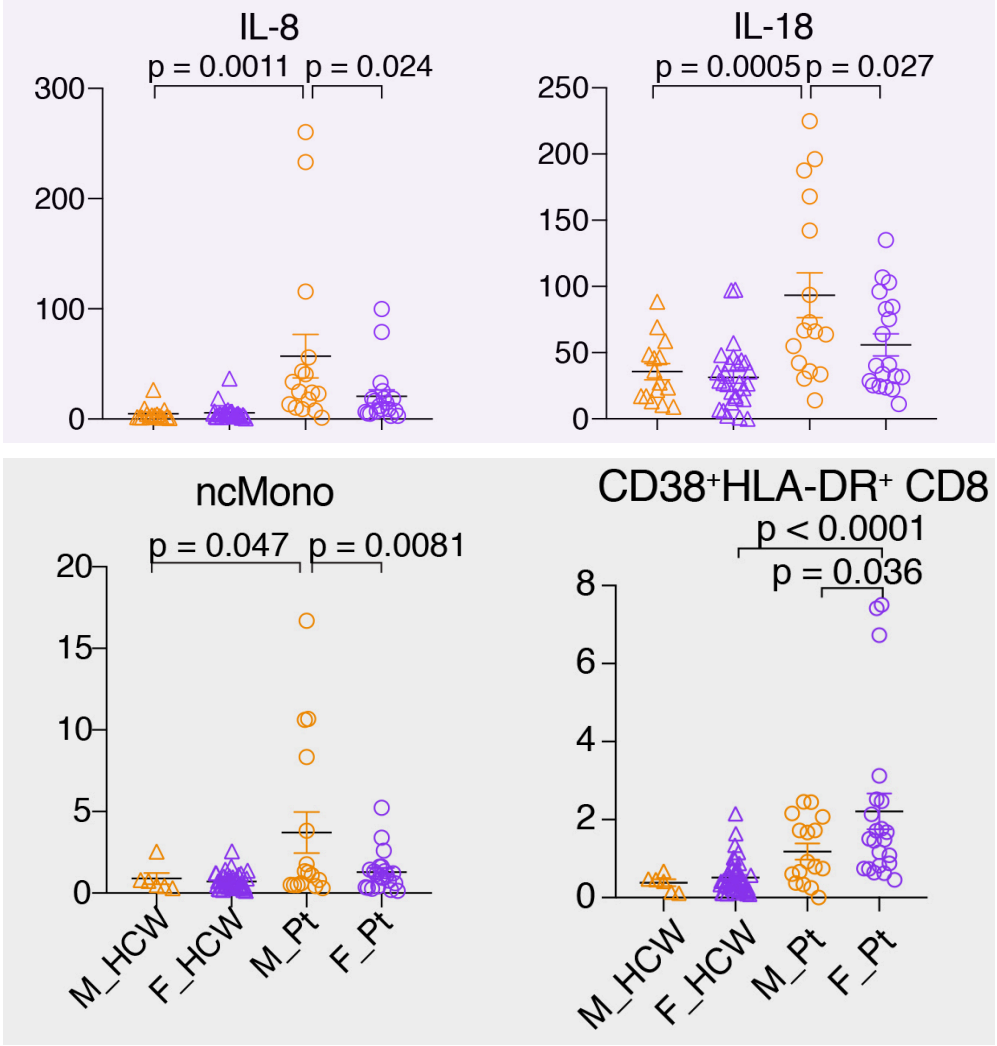


Carvelli, Nature, 2020

Différences de réponse immune contre le SARS-CoV-2 selon le sexe des personnes infectées

Etude immunologique et virologique chez les patients atteints de Covid-19 selon leur sexe
Patients de sexe masculin caractérisés par :

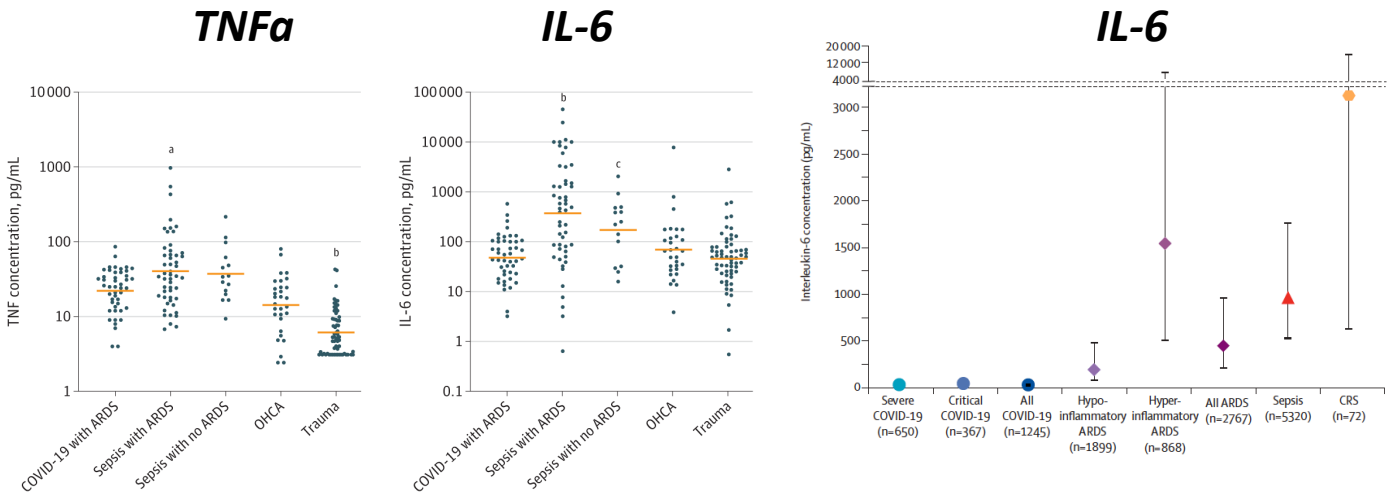
- **Taux plasmatiques plus élevés de cytokines de l'immunité innée (IL-8 et l'IL-18)**
- **Induction plus marquée de monocytes non-classiques** *(alors que leur baisse est associée aux formes sévères)*
- **Activation moins robuste des lymphocytes T**

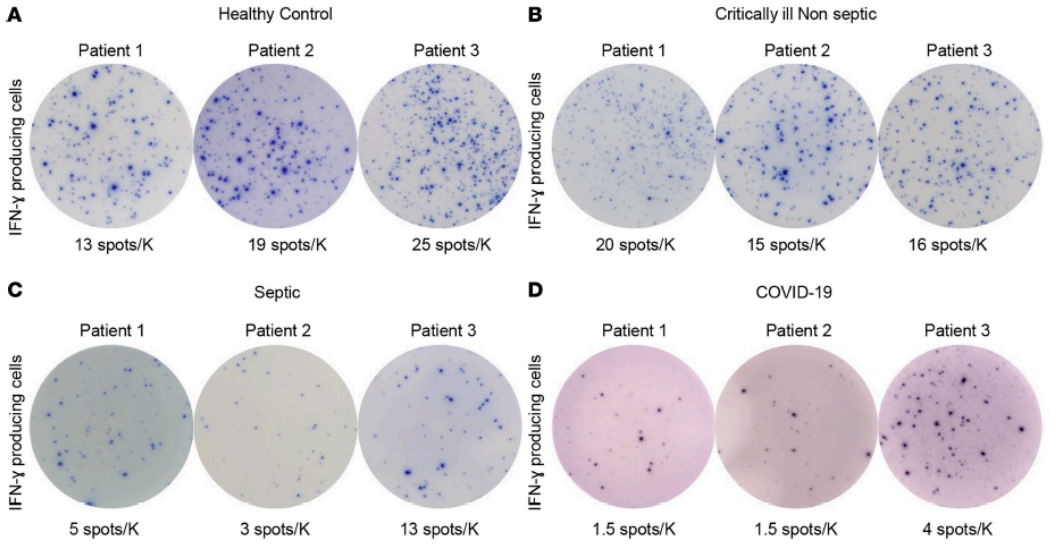


Takahashi, Nature, 2020

Formes sévères cependant associées à une immunosuppression plutôt qu'à un orage cytokinique

Utilisation du terme d'***orage cytokinique*** ayant conduit à l'utilisation de traitements anti-cytokines (anti-IL-6, anti-IL-1)
Comparaison de la production de cytokines pro-inflammatoires et des fonctions effectrices lymphocytes T au cours de la Covid-19 comparativement au sepsis, SDRA non-Covid-19, syndrome de relargage cytokinique ou autres défaillances





Kox, JAMA, 2020
Remy, J Clin Invest, 2020
Leisman, Lancet, 2020

Conclusions

Formes sévères de Covid-19 caractérisées par :

- **Une immunosuppression avec défaut d'activation des cellules présentatrices d'antigène et d'activité des IFN de type 1, associé à un défaut de clairance du virus**
- **Production d'alarmines et activation exagérée de la voie NFκB avec production de TNF-α et d'IL-6 (mais non démesurée…)**
- **Perturbation du compartiment myéloïde avec augmentation des monocytes HLA-DR^{lo} et des neutrophiles immatures dans sang/LBA (myélopoïèse d'urgence) participant à l'immunosuppression**
- **Rôle amplificateur de l'axe C5a/C5aR1 exprimé par les cellules myéloïdes**

Remerciements

Patients and leurs familles

Collègues de l'Hôpital Cochin : Dr. Solen Kerneis, Prof. Frédéric Pène, Prof. Didier Journois, Dr. Nicolas Carlier, Prof. Nicolas Roche, Prof. Flore Rozenberg

Institut Imagine : Dr. Jérôme Hadjadj, Dr. Laura Barnabei, Prof. Alain Fischer, Dr. Frédéric Rieux-Laucat

Institut Pasteur : Dr. Nader Yatim, Jérémy Boussier, Dr. Nikaïa Smith, Bruno Charbit, Vincent Bondet, Sarah Merkling, Dr. Darragh Duffy

Plateforme Cytométrie PS : Aurélien Corneau, Catherine Blanc

HEGP : Dr. David Veyer, Dr. Hélène Péré, Prof. David Smadja