

Statusartikel

Ugeskr Læger 2021;183:V05210442

Næsen kan være fokus for behandling af og profylakse mod COVID-19

Maria Rusan¹, Thomas Oliver Kamarauskas Ovesen², Kurt Fuursted³ & Therese Ovesen^{2, 4}

1) Molekylær Medicinsk Afdeling, Aarhus Universitetshospital, 2) Universitetsklinisk for Flavour, Balance og Søvn, Øre-Næse-Halskirurgisk Afdeling, Hospitalsenheden Vest, 3) Afdeling for Bakterier, Parasitter og Svampe, Statens Serum Institut, 4) Institut for Klinisk Medicin, Health, Aarhus Universitet

Ugeskr Læger 2021;183: V05210442

HOVEDBUDSKABER

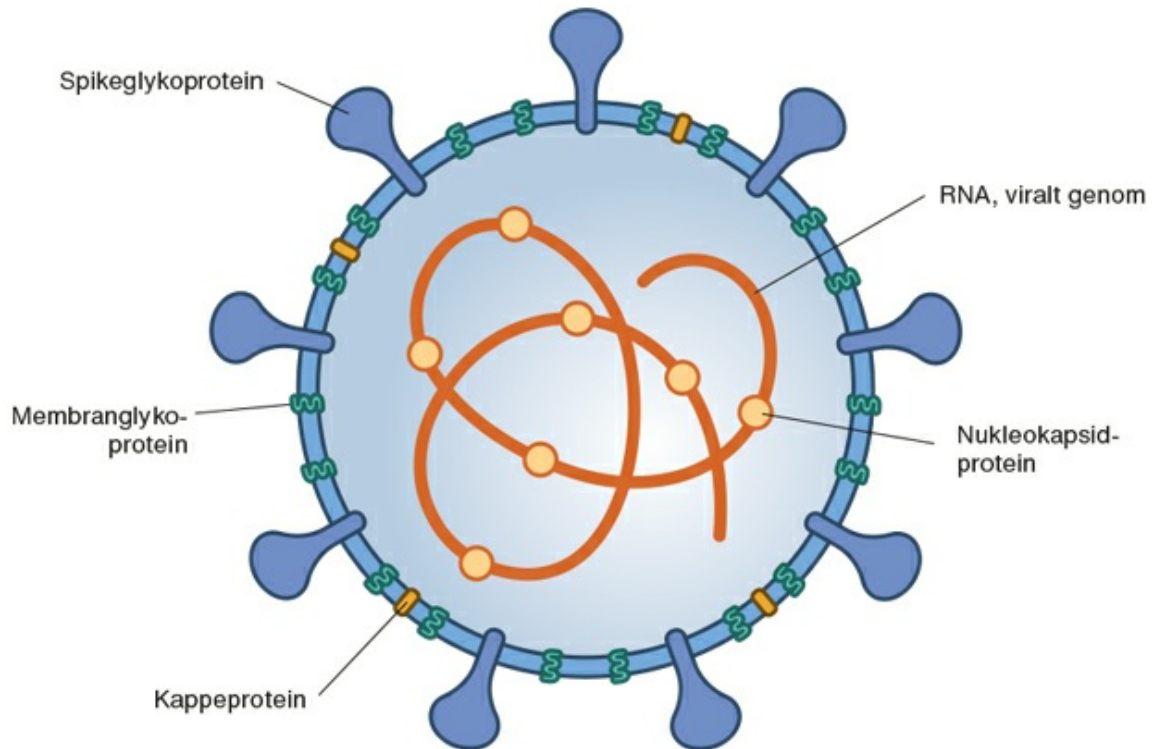
- SARS-CoV-2-infektion starter i de øvre luftveje, især i næseslimhinden.
- Slimhindens mikromiljø og immunrespons kan muligvis påvirke COVID-19-forløbet.
- Intranasal vaccination/antiviral terapi kan muligvis være med til at kontrollere SARS-CoV-2-infektion på inokulationsstedet.

SARS-CoV-2-infektion formodes at starte i næsen, men viden om den initiale virus-vært-interaktion i næseslimhinden er sparsom. I denne artikel opdateres den aktuelle forståelse af SARS-CoV-2-infektion via næsens epitel og det dermed associerede lokale immunrespons. Desuden præsenteres overvejelser om, hvordan denne interaktion påvirker det kliniske COVID-19-forløb og det systemiske immunrespons. Endelig diskuteres potentialet for såvel intranasal vaccination som intranasal antiviral og immunmodulerende terapi.

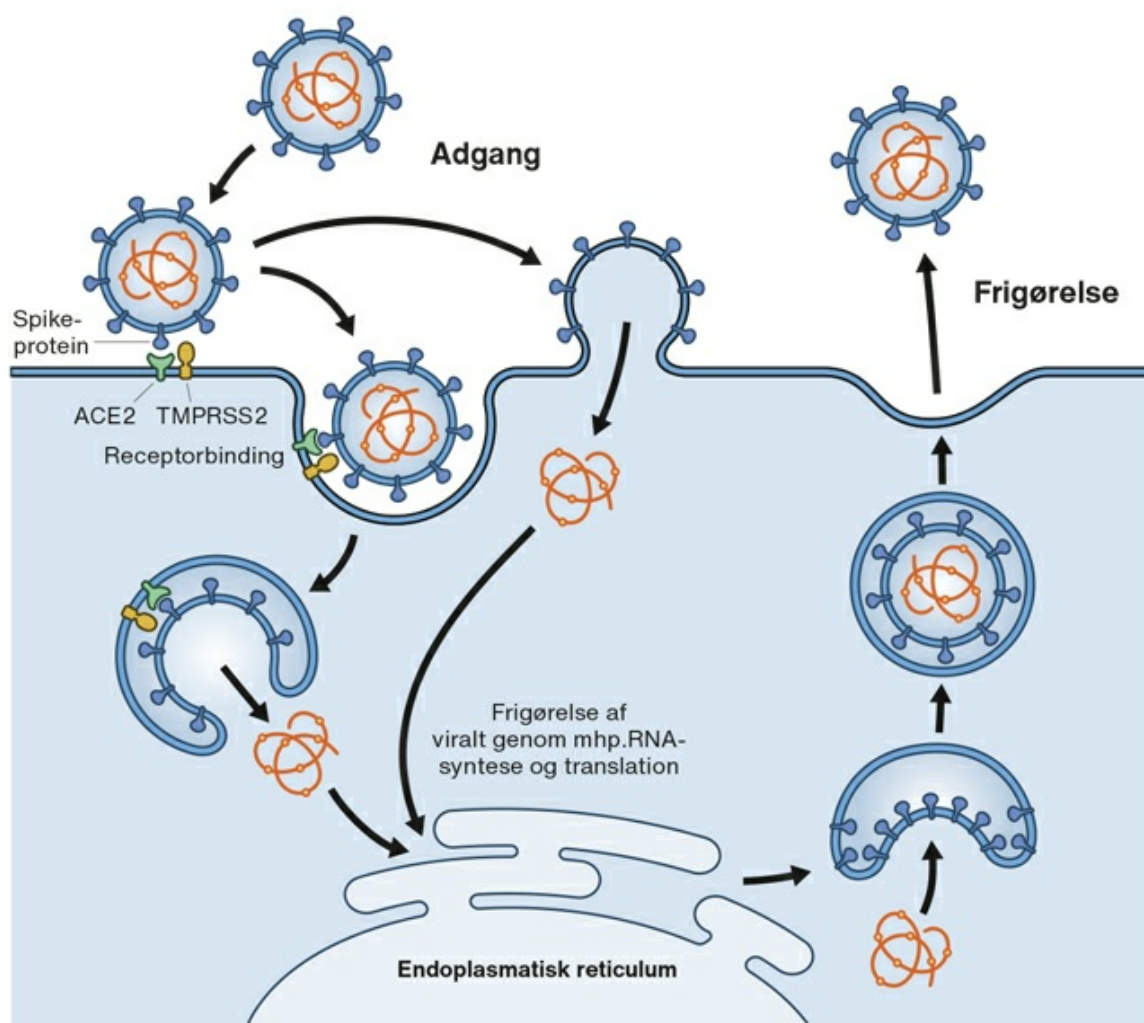
SARS-CoV-2-TRANSMISSION OG -INFEKTION

SARS-CoV-2 er et kappebærende enkeltstrengt positivt RNA-virus, som tilhører Coronaviridae-familien. SARS-CoV-2's genom koder for nukleokapsid-, kappe-, membranglyko- og spikeglykoproteiner samt 16 ikkestrukturelle proteiner, der bl.a. spiller en rolle for viral replikation og modulering af værtens forsvar (**Figur 1**) [1]. Spikeproteinet medierer den virale indtrængen i værtscellerne og består af to underenheder: S1 og S2. S1 indeholder et receptorbindingsdomæne, der kan binde til angiotensinkonverterende enzym 2 (ACE2)-receptorer på overfladen af værtscellen. S1-binding til ACE2 medfører en konformationsændring, og der eksponeres et spaltningssite i S2, som spaltes af en cellulær protease (transmembran serinprotease 2 (TMPRSS2)). Dette medfører yderligere konformationsændring i S2 og fører til fusion mellem virus og værtscellens membran, hvorved det virale genom frigøres i værtscellen (**Figur 2**) [2].

FIGUR 1 SARS-CoV-2's struktur.



FIGUR 2 Infektionsprocessen med SARS-CoV-2. Virus' spikeprotein binder til angiotensin-konverterende enzym 2 (ACE2)-receptorer på overfladen af værtscellen. Binding medfører en konformationsændring, der eksponerer et spaltningssite i spikeproteinet. Dette bliver spaltet via den cellulære protease transmembran serinprotease 2 (TMPRSS2), hvilket medfører yderligere konformationsændring i spikeproteinet og fører til fusion mellem virus og enten værtsens cellemembran eller den endosomale membran. Efter optagelse og fusion frigøres virionen inde i cellen mhp. RNA-syntese og translation. Herefter kan de nysyntetiserede viruspartikler frigøres fra celleoverfladen, hvorfra de kan overføres i dråber til en anden person via f.eks. nysen.



SARS-CoV-2 transmitteres især luftbårent, og næsens epitel udgør SARS-CoV-2's primære adgang til kroppen [3]. I tråd hermed er det påvist, at næseepitel nemmere inficeres med SARS-CoV-2 end epitelet i de nedre luftveje [4]. ACE2 og TMPRSS2 er koudtrykt i luftvejene, tarmen, galdeblæren/-vejene og hornhinden. I næseslimhinden er ACE2 og TMPRSS2 tæt og rigt præsenteret på de cilierede epitelceller, som er det primære mål for SARS-CoV-2-infektionen. Bægerceller udtrykker også ACE2 og TMPRSS2, men det er uafklaret, om de inficeres af SARS-CoV-2 [4-6]. Der er væsentlig variation i modtageligheden over for infektion med SARS-CoV-2 samt i sygdomsgraden, hvilket muligvis kan forklares med forskelle i ekspressionen af ACE2 og TMPRSS2 fra person til person. Et studie af det nasale epitel hos forskellige aldersgrupper viste, at personer under 17 år havde den laveste ACE2-ekspression [7]. Dette kan forklare den lavere prævalens og sværhedsgrad af SARS-CoV-2-infektion blandt børn

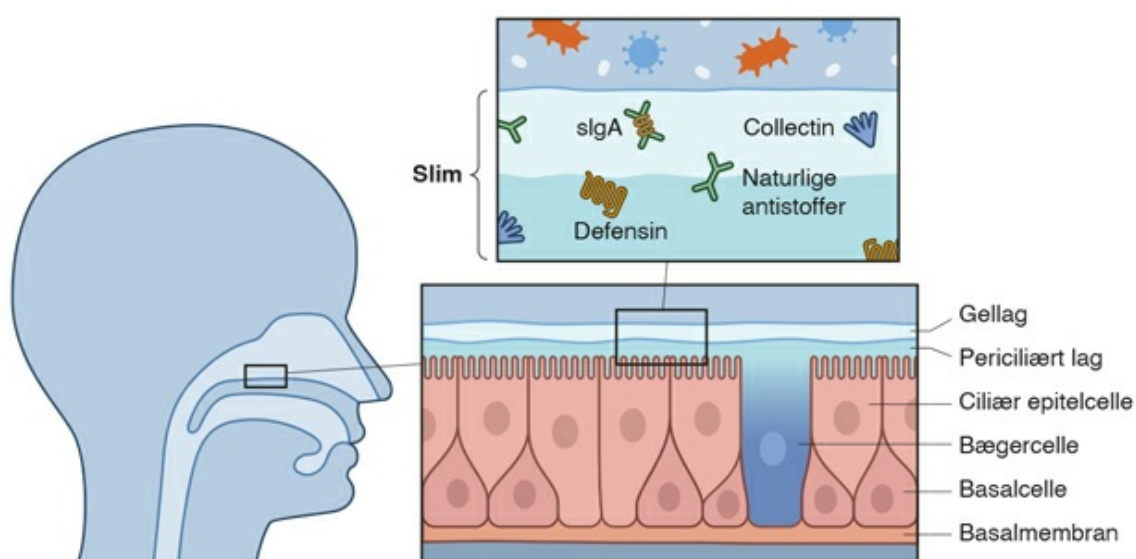
og unge end blandt andre aldersgrupper. ACE2-ekspression er også lavere blandt patienter med luftvejsallergier og astma, og astma er muligvis en beskyttende faktor mod udvikling af COVID-19 [8]. Mekanismen bag dette er formodentlig bl.a. relateret til nedsat type I-interferon (IFN) hos personer med astma, idet ACE2-receptorekspression især er reguleret af IFN- α (et type I-IFN) [6, 9].

COVID-19 medfører forstyrrelse af lugte- og smagssansen hos ca. to tredjedele af patienterne, hvilket yderligere bekræfter den betydelige interaktion med næseslimhinden [10]. Det olfaktoriske epitel findes i den øverste del af næsehulen. Støttecellerne og stamcellerne i det olfaktoriske epitel samt de vaskulære pericytter i bulbus olfactorius udtrykker ACE2 og TMPRSS2. Infektion af disse celler fører formentlig til forstyrrelse i slimhindens opbygning og interfererer med processeringen af lugtmolekylerne og det videre signal til hjernen [6, 11].

NASAL IMMUNOLOGI OG SARS-CoV-2

Næsens slimhinde bombarderes konstant med indtrængende fremmede substanser og udgør dermed den første forsvarslinje mod infektion. Slimhinden fungerer først og fremmest som en fysisk barriere, der beskytter det underliggende væv mod patogene mikroorganismer, allergener og luftbårne irritanter (Figur 3). Slimhinden er opbygget af tæt forbundne cilierede epitelceller, bægerceller og basale epitelceller samt en basalmembran. Overfladen er dækket af slim, der er produceret af de cilierede celler og bægercellerne. Slim består af et mukøst og et periciliært lag, og de to lag indeholder en betydelig mængde antimikrobielle faktorer. Tilsammen udgør dette det mukociliære apparat, der er en af de primære mekanismer til eliminering af patogener og partikler fra de øvre luftveje. Hver epitelcelle har et par hundrede cilier, som bevæger sig synkront, hvilket resulterer i transport af slim fra næsen mod svælget, hvor det synkes eller ekspektoreres. Det er påvist, at den mukociliære clearancetid er signifikant langsommere hos patienter med COVID-19 end hos raske personer [12]. En reduktion af det mukociliære apparats funktion er også beskrevet ved andre luftvejsinfektioner [13].

FIGUR 3 Næseslimhindens opbygning: I næsehulen findes store mængder mikroorganismer og irritanter. Slimhindeoverfladen er beskyttet mod disse af et slimlag. Herunder ses et cilieret epitel med interponerede bægerceller og basalceller hvilende på basalmembranen. Ud over at fungere som fysisk barriere indeholder slim et stort og varieret udbud af molekulære forsvarsmekanismer, såsom defensiner, collectiner, naturlige antistoffer og sekretorisk IgA (slgA).



Slim indeholder hovedsageligt vand (95%), mucinglykoproteiner (2%), sekretorisk immunglobulin A (sIgA) (1%), salt (1%) og lipider (1%) (Figur 3). Mucinerne er tværbundne og interagerer med andre slimkomponenter (f.eks. IgA, kollektiner og defensiner), og de fanger patogener og andre partikler. MUC5AC og MUC5B er de dominerende geldannende muciner i næseslimhinden [14]. Mucinproduktionen opreguleres af forskellige stimuli f.eks. virus, bakterielle toksiner og allergener mhp. bedre at kunne opfange og fjerne patogener og irriteranter. MUC1- og MUC5AC-niveauerne er forhøjede hos kritisk syge patienter med COVID-19, men betydningen heraf er ukendt [15]. Derudover findes der en række innate immunmolekyler, såsom kollektiner og defensiner. Der foreligger endnu ingen data, der beskriver disse komponenters interaktion med SARS-CoV-2 i næseslimhinden.

sIgA forhindrer patogene mikroorganismers binding til epitelcellerne. sIgA-responset mod SARS-CoV-2 er dårligt belyst, men sIgA med SARS-CoV-2-neutraliserende kapacitet er påvist i både næseslimhinden og spytet og dominerer det tidlige sygdomsforløb [16, 17]. 15-20% af patienterne med et mildt COVID-19-forløb har spikeglykoproteinspecifikt immunglobulin (IgA) og IgG i nasalsekretet uden at være seropositive. Disse immunglobuliner produceres altså lokalt og ikke via systemisk immunaktivering [16]. Endvidere korrelerer mængden af spikeproteinspecifikke IgA-antistoffer i næseslimhinden omvendt med patientens alder. Dette tyder på, at yngre patienter har et øget slimhindeassocieret antistofrespons, som kan forklare deres mildere sygdomsforløb [16].

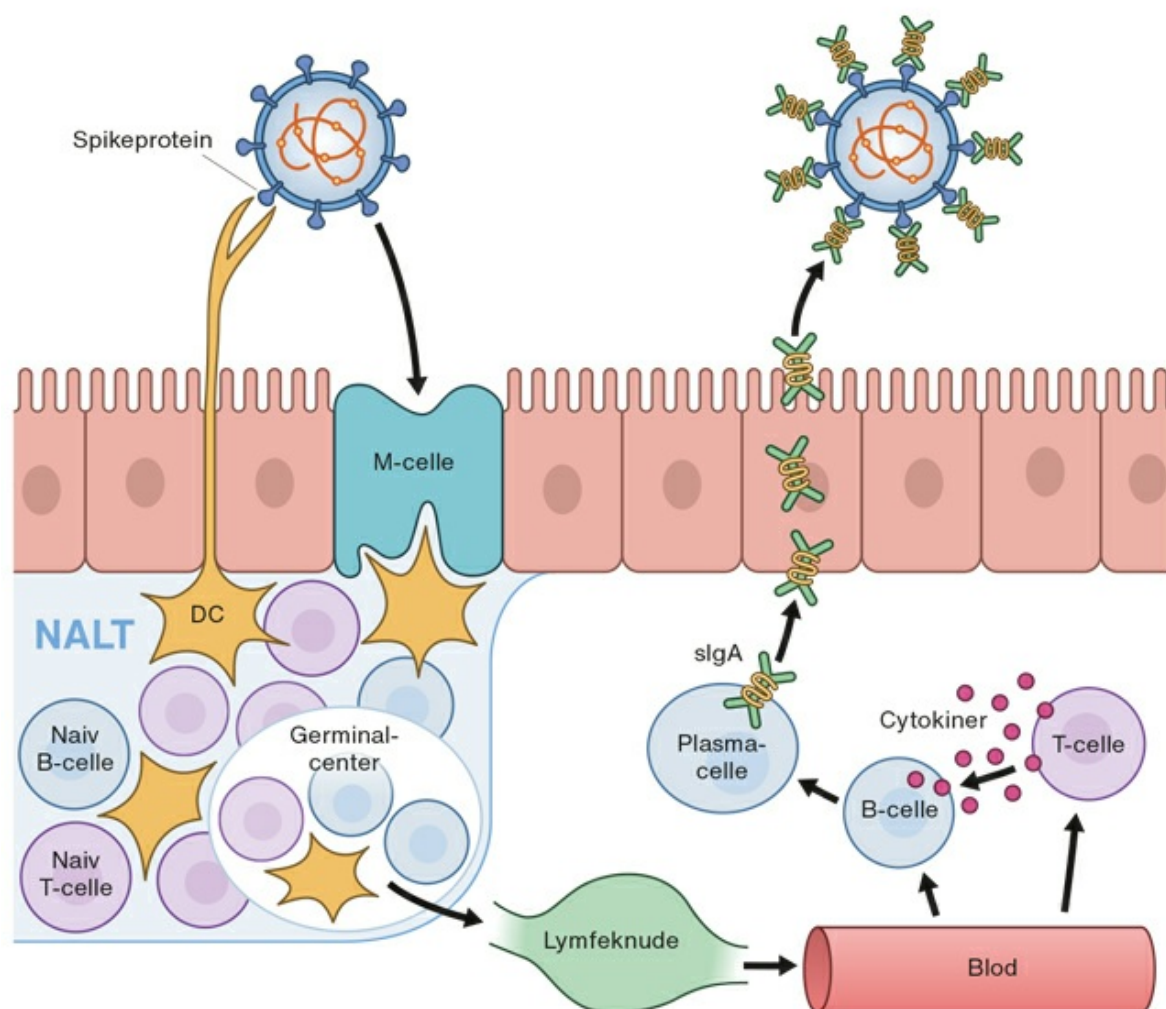
Naturlige antistoffer i slim spiller også en vigtig rolle i det initiale respons over for patogener. Disse produceres af B-celler i fravær af antigen og binder til enten eksogene eller endogene epitoper [18]. Et eksempel er naturlige antistoffer, der genkender antigener tilhørende AB0-systemet (f.eks. på erythrocytter). AB0-antigener er også til stede på mange epitelcelletyper. Coronavirusvirioner, der er dannet i celler fra personer med blodtype A eller B, inkorporerer muligvis disse antigener i deres kappe, hvilket er blevet påvist i en in vitro-model [19]. Hvis man har naturlige anti-A- eller anti-B-antistoffer, er man således potentielt mere beskyttet mod SARS-CoV-2 end andre, da antistofferne vil angribe virionerne [19]. I tråd hermed har personer med blodtype 0 (der har både anti-A- og anti-B-antistoffer) en lavere risiko for infektion end personer med andre blodtyper [20-24].

Hvis SARS-CoV-2 trods disse forsvarsmekanismer alligevel inficerer cellerne, kan der induceres pyroptose, der er en form for programmeret celledød, der er forbundet med omfattende sekretion af proinflammatoriske cytokiner, f.eks. interleukin (IL)-6 og kemokiner, f.eks. makrofaginflammatorisk protein 1 α [25]. Undervejs i pyroptoseprocessen frigøres der også advarselssignaler fra cellerne, hvilket fører til aktivering af innate immunceller. Desuden forventes SARS-CoV-2-komponenter at blive genkendt vha. mønstergenkendende receptorer som toll-lignende receptorer (TLR), hvorved det innate immunrespons aktiveres. En ex vivo-model afslørede, at SARS-CoV-2 medførte kraftig opregulering af IFN-stimulerede gener, cytokiner og kemokiner i næseslimhinden, mens lungevævs innate immunrespons var mere begrænset og ikke inducerede IFN [26]. Ydermere er der evidens for, at det innate immunrespons er vigtigt i bekæmpelsen af SARS-CoV-2-infektion fra et studie, hvor man sammenlignede genomer eller eksomer fra patienter med alvorlige vs. asymptomatiske eller milde COVID-19-forløb. Nogle patienter med alvorlig COVID-19 havde funktionstab i type I IFN-signalering, såsom funktionstab af TLR3 eller IRF7 [27]. TLR3 genkender dobbeltstrengt RNA, men positive enkeltstrengede RNA-virus producerer dobbeltstrengt RNA formentlig i forbindelse med virusreplikation [28]. Tilsvarende har man fundet, at 10,2% af patienterne med alvorlig COVID-19 har neutraliserende autoantistoffer mod type I-IFN (IFN- og/eller IFN- α) [29]. Disse fund understreger, hvor vigtigt type I-IFN-responset er for at begrænse infektion med SARS-CoV-2, samt at både nedarvede og erhvervede defekter i type I-IFN-signalering kan føre til et alvorligt COVID-19-forløb.

I næseslimhinden findes der også både innate og adaptive immunceller, f.eks. antigenpræsenterende epitelceller (M-celler), makrofager, innate lymfoide celler, dendritceller samt B- og T-celler, som tilsammen

udgør det nasalt associerede lymfatiske væv (Figur 4). Der foreligger endnu ikke data vedr. det cellulære immunrespons i næsen over for SARS-CoV-2-infektion.

FIGUR 4 Næseslimhindens immunrespons. Antigener fra næsen transporteres til det nasalt associerede lymfatiske væv (NALT) via M-celler i epitelet. NALT indeholder dendritceller (DC), som præsenterer antigen for T-celler, der understøtter fremkomsten af immunglobulin (Ig)A-producerende B-celler i germinalcentre i de lymfoide follikler. B-cellerne migrerer efterfølgende til regionale lymfeknuder og antigenspecifikke T-celler og IgA+ B-celler migrerer dernæst til næseslimhinden. IgA+ B-celler differentierer til plasmaceller, der producerer sekretorisk IgA, som frigives til næsehulen. Sekretorisk IgA kan binde til epitoper på overfladen af virus, såsom spikeproteinet på SARS-CoV-2-overfladen og dermed forhindre binding til epitelcellerne.



SARS-CoV-2-VACCINER OG SLIMHINDERESPONS

Den tidlige interaktion mellem virus og værtsceller sker således primært i de øvre luftveje og især i næsen. Flere har påpeget, at slimhindeimmunitet kan vise sig at være afgørende i forebyggelsen af SARS-CoV-2-transmission og har understreget potentialet i næseslimhindens immunologiske kapacitet mhp. f.eks. intranasal vaccination [30]. De vacciner, der p.t. anvendes mod SARS-CoV-2 i Danmark, stimulerer det adaptive immunsystem vha.

parenteral immunisering med syntetisk mRNA, der koder for spikeprotein (Pfizer-BioNTech og Moderna). Dette udløser et kraftigt systemisk respons, men det er usikkert, om det stimulerer et slimhinderespons. Forsøg med Pfizer-BioNTechs vaccine i rhesusaber har dog vist hurtig virusclearance (tre dage efter challenge med virus) fra både de øvre (næsepodning) og nedre luftveje (bronkoalveolær skyl) i immuniserede aber. Dette tyder muligvis på, at vaccinen stimulerer et slimhinderespons, men der er behov for yderligere studier for at fremme vores forståelse af slimhindens immunrespons ved vaccination med de p.t. godkendte vacciner.

I et andet studie har man undersøgt en intranasal adenovirusbaseret SARS-CoV-2-vaccine i mus. Intranasal administration gav et mere effektivt slimhindeassocieret og systemisk immunrespons end intramuskulær administration. Intranasal administration resulterede i SARS-CoV-2-specifikt IgA i serum og i bronkoalveolær skyllevæske samt et cytotoxisk T-celle-respons i lungevævet og hurtigere clearance af virus i luftvejene end intramuskulær injektion. Samme vaccine er testet i rhesusaber med lignende resultater. Med en intranasal vaccine vil man således muligvis kunne kontrollere SARS-CoV-2-infektion, og vaccinen vil evt. kunne kombineres med en parenteral vaccine for at opnå højere grad af både systemisk immunitet og slimhindeimmunitet.



SARS-CoV-2-infektion via næsens epitel.

Endnu er medicinsk behandling af COVID-19 begrænset til remdesivir, dexametason, monoklonale antistoffer og IL-6-hæmmere. Der er behov for flere behandlingsmuligheder, og der er derfor fokus på en række intranasale kandidater. Disse muligheder undersøges for tiden i flere kliniske studier. Blandt disse kandidater er niclosamid (middel mod helminter), som in vitro og i mus har udvist potent anti-SARS-CoV-2-virusaktivitet, og i et fase 1-studie var veltålt givet som inhalation. Antiseptisk povidoniodin har også vist sig at kunne inaktivere SARS-CoV-2 og være veltålt både som næsedråber og til gurglen. Det er derfor foreslået som forebyggelse af SARS-CoV-2-smitte samt til reduktion af sygdomsgraden ved at begrænse spredningen af virus til lungerne. Andre profylaktiske eller terapeutiske applikationer, der undersøges, er bl.a. xylitol tilsat et ekstrakt af grapefrugtkerner, intranasal kortikosteroid, intranasal skylning med saltvand, næsespray med iota-carrageenan

og PUL-042 (en TLR-agonist, der booster immunresponset).

KONKLUSION

Virus-vært-interaktion i næseslimhinden har stor betydning for infektionsrisikoen med SARS-CoV-2. Interaktionen påvirker desuden det kliniske COVID-19-forløb og det systemiske immunrespons. Selv om vi allerede har kendskab til flere aspekter af virus-vært-interaktionen, mangler vi fortsat detaljeret viden om processen samt udvikling og anvendelse af intranasal vaccination og antiviral behandling.

Korrespondance *Therese Ovesen*. E-mail: theroves@rm.dk

Antaget 26. august 2021

Publiceret på ugeskriftet.dk 13. september 2021

Interessekonflikter Der er anført potentielle interessekonflikter. Forfatternes ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på ugeskriftet.dk

Referencer findes i artiklen publiceret på ugeskriftet.dk. Den fulde referenceliste kan fås ved henvendelse til forfatterne.

Artikelreference Ugeskr Læger 2021;183: V05210442

SUMMARY

The nose can be the focus of treatment and prophylactic approaches against COVID-19

Maria Rusan, Thomas Oliver Kamarauskas Ovesen, Kurt Fuursted & Therese Ovesen

Ugeskr Læger 2021;183:V05210442

Infection with SARS-CoV-2 frequently commences in the nasal cavity, yet knowledge about this initial virus-host interaction is sparse. In this review, we update our current understanding of SARS-CoV-2 infection via the nasal epithelium and the associated local immune response. Furthermore, we present considerations to how this interaction may influence the clinical course of COVID-19 and the systemic immune response, and lastly touch upon the potential for intranasal vaccination, intranasal antiviral therapies and immunomodulatory approaches.

REFERENCER

1. V'Kovski P, Kratzel A, Steiner S et al. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. *Nat Rev Microbiol* 2021;19:155-70.
2. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell* 2020;181:271-80.
3. Cevik M, Kuppalli K, Kindrachuk J et al. Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2. *BMJ* 2020;371:m3862.
4. Hou YJ, Okuda K, Edwards CE et al. SARS-CoV-2 reverse genetics reveals a variable infection gradient in the respiratory tract. *Cell* 2020;182:429-46.
5. Sungnak W, Huang N, Becavin C et al. SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nat Med* 2020;26:681-7.
6. Ziegler CGK, Allon SJ, Nyquist SK et al. SARS-CoV-2 receptor ACE2 is an interferon-stimulated gene in human airway epithelial cells and is detected in specific cell subsets across tissues. *Cell* 2020;181:1016-35.
7. Bunyavanich S, Do A, Vicencio A. Nasal gene expression of angiotensin-converting enzyme 2 in children and adults. *JAMA* 2020;323:2427-9.
8. Jackson DJ, Busse WW, Bacharier LB et al. Association of respiratory allergy, asthma, and expression of the SARS-CoV-2

- receptor ACE2. *J Allergy Clin Immunol* 2020;146:203-6.
9. Jian L, Yi W, Zhang N et al. Perspective: COVID-19, implications of nasal diseases and consequences for their management. *J Allergy Clin Immunol* 2020;146:67-9.
 10. Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, Hans S et al. Loss of smell and taste in 2013 European patients with mild to moderate COVID-19. *Ann Intern Med* 2020;173:672-5.
 11. Brann DH, Tsukahara T, Weinreb C et al. Non-neuronal expression of SARS-CoV-2 entry genes in the olfactory system suggests mechanisms underlying COVID-19-associated anosmia. *Sci Adv* 2020;6:eabc580.
 12. Koparal M, Kurt E, Altuntas EE et al. Assessment of mucociliary clearance as an indicator of nasal function in patients with COVID-19: a cross-sectional study. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2021;278:1863-8.
 13. Kuek LE, Lee RJ. First contact: the role of respiratory cilia in host-pathogen interactions in the airways. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2020;319:L603-L619.
 14. Zhang N, van Crombruggen K, Gevaert E et al. Barrier function of the nasal mucosa in health and type-2 biased airway diseases. *Allergy* 2016;71:295-307.
 15. Lu W, Liu X, Wang T et al. Elevated MUC1 and MUC5AC mucin protein levels in airway mucus of critical ill COVID-19 patients. *J Med Virol* 2021;93:582-4.
 16. Cervia C, Nilsson J, Zurbuchen Y et al. Systemic and mucosal antibody responses specific to SARS-CoV-2 during mild versus severe COVID-19. *J Allergy Clin Immunol* 2021;147:545-57.
 17. Sterlin D, Mathian A, Miyara M et al. IgA dominates the early neutralizing antibody response to SARS-CoV-2. *Sci Transl Med* 2021;13:eabd2223.
 18. Reyneveld GI, Savelkoul HFJ, Parmentier HK. Current understanding of natural antibodies and exploring the possibilities of modulation using veterinary models. *Front Immunol* 2020;11:2139.
 19. Deleers M, Breiman A, Daubie V et al. Covid-19 and blood groups: ABO antibody levels may also matter. *Int J Infect Dis* 2021;104:242-9.
 20. Zhang Y, Garner R, Salehi S et al. Association between ABO blood types and coronavirus disease 2019 (COVID-19), genetic associations, and underlying molecular mechanisms: a literature review of 23 studies. *Ann Hematol* 2021;100:1123-32.
 21. Zhao J, Yang Y, Huang H et al. Relationship between the ABO blood group and the COVID-19 susceptibility. *Clin Infect Dis* 2021;73:328-31.
 22. Golinelli D, Boetto E, Maietti E et al. The association between ABO blood group and SARS-CoV-2 infection: a meta-analysis. *PLoS One* 2020;15:e0239508.
 23. Barnkob MB, Pottegard A, Stovring H et al. Reduced prevalence of SARS-CoV-2 infection in ABO blood group O. *Blood Adv* 2020;4:4990-3.
 24. Zietz M, Zucker J, Tatonetti NP. Associations between blood type and COVID-19 infection, intubation, and death. *Nat Commun* 2020;11:5761.
 25. Tay MZ, Poh CM, Renia L et al. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol* 2020;20:363-74.
 26. Alfi O, Yakirevitch A, Wald O et al. Human nasal and lung tissues infected ex vivo with SARS-CoV-2 provide insights into differential tissue-specific and virus-specific innate immune responses in the upper and lower respiratory tract. *J Virol* 2021;95:e001302.
 27. Zhang Q, Bastard P, Liu Z et al. Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19. *Science* 2020;370:eabd4570.
 28. Weber F, Wagner V, Rasmussen SB et al. Double-stranded RNA is produced by positive-strand RNA viruses and DNA viruses but not in detectable amounts by negative-strand RNA viruses. *J Virol* 2006;80:5059-64.
 29. Bastard P, Rosen LB, Zhang Q et al. Autoantibodies against type I IFNs in patients with life-threatening COVID-19. *Science* 2020;370:eabd4585.
 30. Gallo O, Locatello LG, Mazzoni A et al. The central role of the nasal microenvironment in the transmission, modulation, and clinical progression of SARS-CoV-2 infection. *Mucosal Immunol* 2021;14:305-16.