

新型冠状病毒受体血管紧张素转化酶 2 在眼组织表达及分布的研究进展

朱雨生^{1,2}, 李腾^{1,2}, 汪耀^{1,2}, 陈晓冬^{1,2}

引用:朱雨生,李腾,汪耀,等. 新型冠状病毒受体血管紧张素转化酶 2 在眼组织表达及分布的研究进展. 国际眼科杂志 2023; 23(6):943-946

基金项目:陕西省教育厅公共应急专项基金(No.20JG033);西北大学防治新型冠状病毒肺炎紧急科研专项引导基金(2020年)

作者单位:¹(710002)中国陕西省西安市,西北大学附属第一医院 西安市第一医院 陕西省眼科研究所;²(710069)中国陕西省西安市,西北大学

作者简介:朱雨生,在读硕士研究生,研究方向:生物与医药。

通讯作者:陈晓冬,毕业于中山大学,博士研究生,副主任医师,硕士研究生导师,研究方向:眼科疾病的基础与临床研究. exd390203850@163.com

收稿日期:2022-09-26 修回日期:2023-05-08

摘要

2019 年以来,新型冠状病毒(2019-nCoV,也被称为 SARS-CoV-2)在全世界范围内引起了数亿人感染,造成数百万人死亡,对人类健康及社会经济带来了极大的威胁。随着对 SARS-CoV-2 不断深入的研究,血管紧张素转化酶 2(ACE2)被认为是 SARS-CoV-2 入侵人体的重要功能受体。ACE2 在人体多个组织部位都有分布,不仅表达于肺、心血管、肾脏组织,而且也表达于眼部的结膜、角膜、葡萄膜、视网膜和视神经等组织。越来越多的研究发现 SARS-CoV-2 通过眼部感染的病例,然而眼部 ACE2 是否在 SARS-CoV-2 感染过程中发挥作用尚不完全明确,因此探讨 ACE2 在眼组织中的表达及分布,不但可以深入了解 SARS-CoV-2 感染的机制,也可以全面认识 ACE2 在眼组织的作用机制。本文综述关于 ACE2 在眼组织表达及分布的研究进展,期望能更好地理解 ACE2 在眼组织病理生理过程中的作用机制。

关键词:血管紧张素转化酶 2; 结膜; 角膜; 葡萄膜; 视网膜; 视神经; 新型冠状病毒

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2023.6.12

Research progress on the expression and distribution of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 receptor angiotensin - converting enzyme 2 in ocular tissues

Yu-Sheng Zhu^{1,2}, Teng Li^{1,2}, Yao Wang^{1,2}, Xiao-Dong Chen^{1,2}

Foundation items: Public Emergency Special Project of Education

Department of Shaanxi Provincial Government (No. 20JG033); Special Guidance Fund for Emergency Scientific Research on the Prevention and Treatment of COVID-19 by Northwest University (2020)

¹The First Affiliated Hospital of Northwest University; Xi'an No.1 Hospital; Shaanxi Institute of Ophthalmology, Xi'an 710002, Shaanxi Province, China; ²Northwest University, Xi'an 710069, Shaanxi Province, China

Correspondence to: Xiao-Dong Chen. The First Affiliated Hospital of Northwest University; Xi'an No.1 Hospital; Shaanxi Institute of Ophthalmology, Xi'an 710002, Shaanxi Province, China; Northwest University, Xi'an 710069, Shaanxi Province, China. exd390203850@163.com

Received:2022-09-26 Accepted:2023-05-28

Abstract

• Since 2019, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) posed a great threat to human health and social economy, which has brought out hundreds of millions infection and caused millions of deaths worldwide. With the increasing research on SARS-CoV-2, angiotensin - converting enzyme 2 (ACE2) has been regarded as a significant functional receptor for SARS-CoV-2 invasion. ACE2 is distributed in many tissues of human body, not only expressed in lung, cardiovascular, kidney tissues, but also in conjunctiva, cornea, uvea, retina and optic nerve tissue. More and more cases of SARS-CoV-2 infection through ocular tissues have been found; however, whether ocular ACE2 plays a role in SARS-CoV-2 infection is not completely clear. Therefore, study on expression and distribution of ACE2 in the ocular tissues can not only provide an in-depth understanding of the mechanism of SARS-CoV-2 infection, but also supply a comprehensive acquaintance with the mechanism of ACE2 action in the ocular tissues. In this paper, we review recent research progress about the expression and distribution of ACE2 in ocular tissues and hope to better understand the mechanism of ACE2 in the pathophysiological processes of ocular tissues.

• **KEYWORDS:** angiotensin - converting enzyme 2; conjunctiva; cornea; uvea; retina; optic nerve; severe acute respiratory syndrome coronavirus 2

Citation: Zhu YS, Li T, Wang Y, *et al.* Research progress on the expression and distribution of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 receptor angiotensin - converting enzyme 2 in ocular tissues. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2023;23(6):943-946

0 引言

新型冠状病毒感染肺炎 (corona virus disease 2019, COVID-19) 疫情,已在世界范围内广泛流行近 3a,目前累计已造成超过 7.6 亿人感染和 690 万人死亡,给全世界的公共卫生防控和临床诊治系统带来巨大挑战^[1]。COVID-19 是由新型冠状病毒 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2) 引起的一种感染性疾病。有研究证实血管紧张素转化酶 2 (angiotensin-converting enzyme 2, ACE2) 是感染 SARS-CoV-2 的主要受体^[2]。ACE2 是肾素-血管紧张素系统的重要组成部分,在 SARS-CoV-2 入侵人体的过程中,位于突刺蛋白 S1 和 S2 亚基之间的受体结合蛋白 (receptor-binding-protein, RBD) 能够与 ACE2 高亲和力结合^[3-7]。最近有研究表明 ACE2 受体存在于眼部的角膜、结膜、葡萄膜、视网膜、视神经等组织^[8-11],与 SARS-CoV-2 感染和多种眼部疾病密切相关^[12-14]。因此,探讨 ACE2 在眼组织的表达分布对深入理解 SARS-CoV-2 的感染机制和发病原因有重要意义。

1 ACE2 在结膜的表达

结膜是指覆盖在上、下眼睑内侧和眼球前部,由复层柱状上皮和少量结缔组织形成的透明膜状组织,有保护眼球、促进眼球移动的功能。结膜内含有大量的血管和神经末梢,存在 ACE2 受体,对外界的刺激较敏感,因此成为 SARS-CoV-2 入侵的重要位点^[14]。Collin 等^[15]利用单细胞测序以及免疫组化技术分析了 ACE2 在胚胎、胎儿和成人眼表的表达,结果显示 ACE2 和跨膜丝氨酸蛋白酶 (TMPRSS2) 在结膜上皮中显著表达,因此推测 ACE2 和 TMPRSS2 是 SARS-CoV-2 入侵眼组织的靶点之一,同时他们还发现 SARS-CoV-2 可通过炎症上调 ACE2 和 TMPRSS2 的表达,使眼表感染的概率显著上升。Ma 等^[16]通过高通量 RNA 测序发现 ACE2 和 TMPRSS2 的 mRNA 在结膜杯状细胞中共表达量最高,因此推测各类细胞中 ACE2 和 TMPRSS2 共表达量越高,感染 SARS-CoV-2 的可能性就越高。Mencucci 等^[17]通过 Western blot、免疫组化等手段来评估 ACE2 和 TMPRSS2 在人永生结膜上皮细胞系和健康结膜组织中的表达:Western blot 显示 ACE2 和 TMPRSS2 在人永生结膜细胞中高表达,免疫组化染色证实了 ACE2 在结膜细胞中显著表达并明确了 ACE2 定位于细胞膜。Zhou 等^[18]免疫组化结果显示 ACE2 在结膜的表层上皮细胞、表层上皮细胞和基底部的结合处有表达,但大部分杯状细胞不表达 ACE2;就亚细胞定位来说,ACE2 主要分布于细胞膜和细胞质中,细胞核中并不表达。此外,Li 等^[19]研究发现病变结膜组织中的 ACE2 较正常结膜组织中的表达显著增加。国外有学者通过 RT-PCR 发现在翼状胬肉组织中能检测到 ACE2 mRNA 表达,因此若存在翼状胬肉时,要注意 SARS-CoV-2 通过翼状胬肉感染的可能性^[20]。但是,Lange 等^[21]采用高通量 RNA 测序来验证 ACE2 及其辅助因子的 mRNA 表达时,发现 ACE2 及其辅助因子在结膜组织中并未转录,提示 ACE2 在结膜组织中并不表达,该结果与结膜组织中存在 ACE2 的实验结果相互矛盾,从而对 ACE2 在结膜中表达分布提出了一些质疑。因此有必要

继续深入研究 ACE2 在结膜中的表达与分布,关注结膜中 ACE2 在 SARS-CoV-2 传播过程中通过眼组织感染机体的可能性,同时还需注意 SARS-CoV-2 患者因结膜组织存在 ACE2 而导致眼表发生炎症的可能性。

2 ACE2 在角膜的表达

角膜位于眼球壁的最前端,主要由上皮细胞层、前弹力层、基质层、后弹力层和内皮细胞层构成。角膜含有丰富的神经末梢,又直接暴露于外界环境中,因此眼部损伤、微小刺激以及炎症反应都会引起显著疼痛以及其它不适反应,也成为各类病毒入侵的位点之一。Zhou 等^[18]对人角膜中 ACE2 和 TMPRSS2 进行了分析,Western blot 结果显示角膜上皮组织裂解物中存在 ACE2 蛋白;免疫组化结果显示 ACE2 在角膜内皮、角膜上皮和角膜缘均有表达,其中表层上皮细胞的表达最强,但角膜基质无明显 ACE2 表达。Yuan 等^[22]研究发现角膜中 ACE2 的 TPM 值远高于肺组织;与肺及 RPE 细胞相比,ACE2 在角膜中与 TMPRSS2、SLC6A20C 和 LZTFL1 的共表达相关性最高,也提示共表达越高,感染 SARS-CoV-2 可能性越高。Kaplan 等^[23]发现 ACE2 和 TMPRSS2 的共表达仅在角膜上皮细胞中被证实,结膜上皮中并未出现 ACE2 与 TMPRSS2 的共表达,此发现表明角膜可能是 SARS-CoV-2 感染的重要位点^[19]。Sasamoto 等^[24]采用单细胞测序、流式细胞术和免疫组化等方法检测了 abcb5 阳性角膜缘干细胞 (limbal stem cells, LSCs) 中 TMPRSS2 和 ACE2 的表达,结果显示 ACE2 mRNA 在所有眼组织上皮细胞中均高表达;与 abcb5 阴性的角膜缘上皮细胞相比,abcb5 阳性的 LSCs 高水平表达 TMPRSS2 和 ACE2。在 LSCs 中,TMPRSS2 和 ACE2 的高表达提示该类干细胞感染 SARS-CoV-2 的可能性较高。Roehrich 等^[25]通过免疫组化也鉴定出角膜内皮组织中也表达 ACE2 和 TMPRSS2。以上研究提示由于检测方法和关注重点的差异,不同研究团队的结果显示 ACE2 在角膜中的分布及表达情况并不完全一致,为了进一步理解 ACE2 在 SARS-CoV-2 感染过程中的作用机制,我们仍要继续研究和探讨 ACE2 在角膜中的表达和作用机制。

3 ACE2 在葡萄膜的表达

葡萄膜组织由富含色素的血管性结构组成,从前向后分为虹膜、睫状体、脉络膜三部分。有学者通过免疫组织化学染色检测到脉络膜、睫状体和虹膜基质的色素细胞中均有 ACE2 和 TMPRSS2 表达^[26]。Reinhold 等^[27]通过免疫组织化学染色发现脉络膜毛细血管和一些较大血管的内皮细胞中有 ACE2 点状染色,说明 ACE2 在脉络膜毛细血管以及脉络膜内皮细胞中存在表达;睫状体的无色素上皮细胞中也有一定程度的 ACE2 阳性染色,表明 ACE2 在睫状体中存在表达。Künzel 等^[28]对人视网膜和脉络膜进行单细胞 RNA 测序,发现在脉络膜血管细胞中有少量 ACE2 的表达。以上研究显示 ACE2 在葡萄膜组织有一定表达,由于葡萄膜组织是眼部最容易产生炎症的部位之一,与许多全身疾病密切相关,因此我们推测葡萄膜可能是 SARS-CoV-2 侵袭的重要靶点。

4 ACE2 在视网膜的表达

视网膜位于眼球壁内层,由视网膜神经上皮层和视网膜色素上皮层组成,紧贴脉络膜内面,能够感受光刺激。

视网膜具有多种组织结构以及丰富的神经细胞,易受到各种潜在致病因素的影响。de Senanayake 等^[29]发现正常和糖尿病患者视网膜组织均有 ACE2 蛋白表达,且一致表现为 120kDa 处的单一条带;ACE2 可能在离体组织中降解,导致检测时 ACE2 的信号变弱,因此该研究推测 ACE2 的表达量可能低于其内源性的表达。Schnichels 等^[30]发现人视网膜中有 ACE2 蛋白表达,同时证实视网膜组织中 ACE2 在 mRNA 水平也有表达。Zhou 等^[31]发现 ACE2 在视网膜神经节细胞层、内丛状层、内核层和光感受器外节也有表达,同时证实 ACE2 表达分布于人视网膜内皮细胞和周细胞中。此外,Ahmad Mulyadi Lai 等^[32]通过 PCR 技术发现人诱导多能干细胞的视网膜类器官和单层内源性培养物中 ACE2 和 TMPRSS2 在 mRNA 水平表达较高,免疫荧光染色也证实了视网膜类器官和单层培养物中 ACE2 和 TMPRSS2 在蛋白质水平的表达,该团队的研究结果提示视网膜组织表达 ACE2 并有感染 SARS-CoV-2 的潜在可能。以上研究提示 ACE2 表达分布于视网膜多层组织中,这种表达特征支持新型冠状病毒可能损伤视网膜组织的猜想。但是 Martin 等^[26]对视网膜组织表达 ACE2 提出了一些质疑,他们的研究结果显示 6 个视网膜样本中未检测到 ACE2 的 mRNA 表达,在 RPE 和脉络膜样本中,仅有一个样本中存在 ACE2 低表达,而其余 3 个样本均无 ACE2 表达。虽然本结果与上述大多数结果存在差异,但尚不能完全否认视网膜组织中存在 ACE2 表达,我们推测这可能与视网膜组织结构层次复杂有关,不同研究方法和不同的检测样本也可能使实验结果存在一定差异。最近有研究显示 SARS-CoV-2 患者会出现视网膜病变^[33-34],虽然这些视网膜病变的具体发生机制尚不明确,由于 ACE2 是 SARS-CoV-2 的关键受体,我们有理由推测 ACE2 是新型冠状病毒攻击视网膜的靶点,因此我们需继续深入探讨和研究 ACE2 在视网膜组织中的表达分布和作用机制,同时密切关注 SARS-CoV-2 患者出现各种视网膜病变的可能性。

5 ACE2 在视神经的表达

视神经是中枢神经系统的组成部分,由视网膜神经节细胞的轴突汇集而成,是视觉神经冲动传递的组织结构基础,视神经中无神经胶质细胞,损伤后不能再生,对视功能的影响很大。Martin 等^[26]通过免疫组织染色发现视神经组织样本均不表达 ACE2 和 TMPRSS2,经 RNA 测序后也未发现 ACE2 的 mRNA 存在,因此认为视神经组织不表达 ACE2。然而 Hill 等^[35]采用 32p-腺苷三磷酸(γ -32PdATP)放射性标记的 ACE2 探针来检测与人类视觉相关的 20 种不同类型细胞中 ACE2 mRNA 和蛋白质的水平,结果显示 ACE2 的 mRNA 和蛋白质在整个关联新皮层中表达较高,并且在视神经组织中的表达要高于角膜、结膜与视网膜。他们的结果提示 ACE2 的表达量从眼睛前表面到枕叶和初级视觉新皮层的视觉信号处理区呈梯度增加,说明视神经组织中存在大量的 ACE2。该研究结果与 Martin 等^[26]的结果存在矛盾,这对我们理解 SARS-CoV-2 是否损伤视神经造成一定困惑。由于视神经是视功能传导的重要组织结构,已有文章报道 SARS-CoV-2 患者会出现视神经炎的症状^[13],然而其发病机制尚不清

楚,ACE2 是否发挥作用并不明确,因此要深入研究 ACE2 在视神经组织中的表达和分布,并且警惕 SARS-CoV-2 侵袭视神经组织,导致视功能严重损害的可能性。

6 小结

综上所述,SARS-CoV-2 关键受体 ACE2 在眼部的结膜、角膜、葡萄膜、视网膜、视神经组织中均有表达分布,应重视 SARS-CoV-2 通过眼部组织 ACE2 侵袭人体并造成视功能损伤的可能性^[36]。继续深入研究 ACE2 在眼组织的表达分布及功能,将有利于我们理解 SARS-CoV-2 传播及感染的作用机制,更好地制定针对性的防治策略。

参考文献

- 1 WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard.<https://covid19.who.int/> (accessed on 3 May 2023)
- 2 Zamorano Cuervo N, Grandvaux N. ACE2: Evidence of role as entry receptor for SARS-CoV-2 and implications in comorbidities. *Elife* 2020; 9:e61390
- 3 Yan RH, Zhang YY, Li YN, et al. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science* 2020; 367(6485):1444-1448
- 4 Qiu Y, Zhao YB, Wang Q, et al. Predicting the angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) utilizing capability as the receptor of SARS-CoV-2. *Microbes Infect* 2020; 22(4-5):221-225
- 5 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(2):271-280
- 6 Kuhn JH, Li W, Choe H, et al. Angiotensin-converting enzyme 2: a functional receptor for SARS coronavirus. *Cell Mol Life Sci* 2004; 61(21):2738-2743
- 7 Jiang ZX, Zhang H, Gao J, et al. ACE2 expression is upregulated in inflammatory corneal epithelial cells and attenuated by resveratrol. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2021; 62(7):25
- 8 迟凯耀,贾凯,张祝强,等.严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 型(SARS-CoV-2)眼表感染研究进展. *眼科新进展* 2021; 41(9):892-896
- 9 黄小娜,黄艳君,邵东平. SARS-CoV-2 对眼部的影响及其经眼途径传播的可能性. *眼科新进展* 2021; 41(10):996-1000
- 10 张宇航,谢潇杭,张凤妍. 新型冠状病毒感染相关眼后节病变的研究现状. *国际眼科纵览* 2022; 2:167-172
- 11 张璐佳,靳秀秀,雷博. 新型冠状病毒关键受体 ACE2 在眼部的分布及其临床意义. *中华实验眼科杂志* 2020; 38(5):463-467
- 12 SzeceŹniak M, Brydak-Godowska J. SARS-CoV-2 and the eyes; a review of the literature on transmission, detection, and ocular manifestations. *Med Sci Monit* 2021; 27:e931863
- 13 Sen M, Honavar SG, Sharma N, et al. COVID-19 and eye: a review of ophthalmic manifestations of COVID-19. *Indian J Ophthalmol* 2021; 69(3):488-509
- 14 刘晶,冯俊. SARS-CoV-2 经结膜感染与结膜炎研究述评. *国际眼科杂志* 2020; 20(9):1653-1657
- 15 Collin J, Queen R, Zerti D, et al. Co-expression of SARS-CoV-2 entry genes in the superficial adult human conjunctival, limbal and corneal epithelium suggests an additional route of entry via the ocular surface. *Ocul Surf* 2021; 19:190-200
- 16 Ma RQ, Gan L, Jiang SJ, et al. High expression of SARS-CoV-2 entry factors in human conjunctival goblet cells. *Exp Eye Res* 2021; 205:108501
- 17 Mencucci R, Favuzza E, Becatti M, et al. Co-expression of the

SARS-CoV-2 entry receptors ACE2 and TMPRSS2 in healthy human conjunctiva. *Exp Eye Res* 2021;205:108527

18 Zhou LL, Xu ZH, Castiglione GM, *et al.* ACE2 and TMPRSS2 are expressed on the human ocular surface, suggesting susceptibility to SARS-CoV-2 infection. *Ocul Surf* 2020;18(4):537-544

19 Li SJ, Li DH, Fang JC, *et al.* SARS-CoV-2 receptor ACE2 is expressed in human conjunctival tissue, especially in diseased conjunctival tissue. *Ocul Surf* 2021;19:249-251

20 Ma D, Chen CB, Jhanji V, *et al.* Expression of SARS-CoV-2 receptor ACE2 and TMPRSS2 in human primary conjunctival and pterygium cell lines and in mouse cornea. *Eye (Lond)* 2020;34(7):1212-1219

21 Lange C, Wolf J, Auw-Haedrich C, *et al.* Expression of the COVID-19 receptor ACE2 in the human conjunctiva. *J Med Virol* 2020;92(10):2081-2086

22 Yuan J, Fan DD, Xue ZB, *et al.* Co-expression of mitochondrial genes and ACE2 in Cornea involved in COVID-19. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2020;61(12):13

23 Kaplan N, Gonzalez E, Peng H, *et al.* Emerging importance of ACE2 in external stratified epithelial tissues. *Mol Cell Endocrinol* 2021;529:111260

24 Sasamoto Y, Lee CAA, Yoshihara M, *et al.* High expression of SARS-CoV2 viral entry-related proteins in human limbal stem cells. *Ocul Surf* 2022;23:197-200

25 Roehrich H, Yuan C, Hou JH. Immunohistochemical study of SARS-CoV-2 viral entry factors in the cornea and ocular surface. *Cornea* 2020;39(12):1556-1562

26 Martin G, Wolf J, Lapp T, *et al.* Viral S protein histochemistry reveals few potential SARS-CoV-2 entry sites in human ocular tissues. *Sci Rep* 2021;11(1):19140

27 Reinhold A, Tzankov A, Matter MS, *et al.* Ocular pathology and occasionally detectable intraocular severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 RNA in five fatal coronavirus disease-19 cases. *Ophthalmic Res* 2021;64(5):785-792

28 Künzel SE, Bürgel T, Künzel SH, *et al.* Low vulnerability of the posterior eye segment to sars-cov-2 infection; chorioretinal sars-cov-2 vulnerability. *Retina* 2022;42(2):236-243

29 de Senanayake P, Drazba J, Shadrach K, *et al.* Angiotensin II and its receptor subtypes in the human retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48(7):3301-3311

30 Schnichels S, Rohrbach JM, Bayyoud T, *et al.* Can SARS-CoV-2 infect the eye? An overview of the receptor status in ocular tissue. *Ophthalmologe* 2021;118(1):81-84

31 Zhou LL, Xu ZH, Guerra J, *et al.* Expression of the SARS-CoV-2 receptor ACE2 in human retina and diabetes-implications for retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2021;62(7):6

32 Ahmad Mulyadi Lai HI, Chou SJ, Chien Y, *et al.* Expression of endogenous angiotensin-converting enzyme 2 in human induced pluripotent stem cell-derived retinal organoids. *Int J Mol Sci* 2021;22(3):1320

33 Dinh RH, Tsui E, Wieder MS, *et al.* Acute macular neuroretinopathy and coronavirus disease 2019. *Ophthalmol Retina* 2023;7(2):198-200

34 Fischer NA, Wann RC, Crosson JN. Acute posterior multifocal placoid pigment epitheliopathy following COVID-19 infection. *Am J Ophthalmol Case Rep* 2023;29:101790

35 Hill JM, Clement C, Arceneaux L, *et al.* Angiotensin Converting Enzyme 2 (ACE2) Expression in the Aged Brain and Visual System. *J Aging Sci* 2021;9(Suppl 7):1

36 刘涵,陈会振.新型冠状病毒肺炎的眼部表现.国际眼科杂志 2022;22(12):2105-2110