





NOUVELLE

La protéine de capsid ORF2 du virus de l'hépatite E, clé de voûte de la persistance virale

Pierre Bablon , Laura Corneillie, Laurence Cocquerel 

Université de Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019-UMR9017, Centre d'infection et d'immunité de Lille (CIIL), Lille, France.

laurence.cocquerel@cnrs.fr

► Ces dernières années a émergé la théorie du « monde à ARN », selon laquelle les virus à ARN contemporains pourraient constituer des réminiscences de l'origine de la vie sur Terre. Des millions d'années d'évolution les ont conduits à devenir des parasites obligatoires, incapables de se multiplier en l'absence d'un hôte cellulaire. Cette longue évolution des virus à ARN, suivie d'une coévolution avec leurs hôtes, a conduit à une optimisation de leurs génomes, parfois longs de moins de 2 000 nucléotides et caractérisés par la présence de cadres ouverts de lecture (*open reading frames*, ORF) chevau-

chants. En conséquence, les protéines virales qu'ils codent sont elles aussi optimisées, fréquemment synthétisées sous forme de polyprotéines ou de protéines multifonctionnelles.

Le virus de l'hépatite E illustre cette stratégie évolutive. Ce virus est responsable de la plupart des cas d'hépatite aigüe dans le monde [1]. Il infecte plus de 20 millions de personnes chaque année et en tue 40 000 à 70 000. Il circule sous forme de huit génotypes, qui diffèrent par leur voie de transmission, leur distribution géographique et leur pathogénicité. En France, la séopré-

valence est de 22 %, et le principal mode de contamination est la consommation de viande de porc ou de gibier pas ou peu cuite. L'infection par ce virus provoque généralement une hépatite aigüe. Celle-ci peut aussi évoluer vers une hépatite chronique chez les patients immunodéprimés infectés par le virus de génotype 3. En outre, l'infection des femmes enceintes par le virus de génotype 1 est mortelle dans 30 % des cas.

Le génome de ce virus est constitué d'un ARN simple brin de polarité positive, d'environ 7 200 nucléotides, qui

qui limite l'activation des facteurs de transcription IRF3 (*interferon regulatory factor 3*) et NF- κ B (*nuclear factor κ B*), entraînant une diminution de la production d'interférons et de cytokines pro-inflammatoires. Ces résultats sont cohérents avec ceux d'études précédentes montrant que ORF2 inhiberait la voie de signalisation impliquant NF- κ B en interagissant avec β -TRCP (*β -transducin repeat containing E3 ubiquitin protein ligase*) [4], ou avec TMEM134 (*transmembrane protein 134*) [5]. Une autre étude a mis en évidence une interaction de ORF2 avec le complexe MAVS (*mitochondrial antiviral signaling*)-TBK1-IRF3 impliquant un motif riche en arginine (*arginine-rich motif*, ARM) situé à l'extrémité N-terminale de la protéine ORF2, et conduisant à une inhibition de la phosphorylation et de la translocation nucléaire de IRF3 [6]. Les expériences de co-immunoprécipitation ont permis de confirmer l'interaction entre ORF2 et TBK1 ainsi que l'importance du motif ARM, bien qu'une modélisation de cette interaction par *AlphaFold2* n'ait pas permis d'identifier le rôle structural de ce motif [3]. L'absence d'analyses fonctionnelles utilisant une ORF2 porteuse d'une mutation du motif ARM constitue une limitation de l'étude.

Les chercheurs ont ensuite produit des génomes du virus déficients pour l'expression de ORF2 (Δ ORF2) ou de ORF3 (Δ ORF3), et montré que l'absence de la protéine ORF2 entraîne une induction accrue et prolongée de la réponse antivirale, associée à une diminution progressive de la réplication virale. Ces constats ont été faits aussi bien après électroporation des génomes viraux dans la lignée cellulaire hépatique HepG2/C3A¹, que lors d'infections de cellules HepG2/C3A ou de cellules souches différenciées en hépatocytes avec des particules virales produites

¹ La lignée cellulaire HepG2 est une lignée de cellules cancéreuses du foie humain. C3A désigne un dérivé clonal de cette lignée.

par trans-complémentation. Notons que la restriction de la réplication du virus mutant Δ ORF2 a pu être partiellement levée par l'inhibition pharmacologique de TBK1, ce qui indique que l'hyperactivation de la réponse antivirale constitue un facteur limitant majeur de la progression de l'infection en l'absence de ORF2. Par ailleurs, les chercheurs ont montré la sensibilité accrue du mutant Δ ORF2 aux traitements par l'interféron α et l'interféron λ dans la lignée hépatique Huh-7.5², déficiente pour la détection des ARN viraux *via* RIG-I. Ce constat suggère que ORF2 confère également une protection directe contre les effecteurs antiviraux induits par les ISG, indépendamment de son interaction avec TBK1. Ainsi, l'équilibre entre l'activation de la réponse cellulaire antivirale et son inhibition partielle par ORF2 apparaît comme une condition préalable à l'établissement d'une réplication persistante du virus.

L'ensemble des fonctions attribuées à ORF2 indique un rôle central de cette protéine dans la persistance virale. Trois mécanismes principaux peuvent être distingués. Le premier découle du rôle de ORF2 dans la formation de la capsid du virus, qui protège physiquement l'ARN viral de son environnement, notamment de sa détection et de sa dégradation par les facteurs cellulaires antiviraux. Le second est la capacité de ORF2 à moduler la réponse antivirale induite par l'infection, soit par interaction avec TBK1 et d'autres facteurs de signalisation, soit par un mécanisme encore mal compris impliquant la localisation nucléaire de ORF2 [7, 8]. Enfin, le troisième repose sur le rôle de ORF2 comme leurre immunologique. ORF2 est en effet produite sous plusieurs formes : la forme infectieuse associée aux particules virales (ORF2i), ainsi que des formes glycosylées et clivées (ORF2g et ORF2c), abondamment sécrétées mais non associées aux virions [9, 10]. Ces formes

² Autre lignée cellulaire dérivée d'un hépatocarcinome humain.

sécrétées constituent la majorité des antigènes viraux détectés dans le sérum des patients infectés, et pourraient détourner la réponse humorale de la cible infectieuse. Dans la continuité des travaux de ces chercheurs, il serait pertinent de déterminer quelle(s) forme(s) de ORF2 antagonisent la réponse antivirale. Au-delà de ces trois mécanismes, ORF2 remplit d'autres fonctions dans le cycle viral. Exposée à la surface des particules virales non enveloppées, elle participe au tropisme viral. De concert avec ORF3, elle contribue également à la formation d'usines virales à proximité des endosomes de recyclage [11, 12], permettant la concentration des composants nécessaires à l'assemblage des néovirions. ORF2 apparaît ainsi comme une protéine multifonctionnelle, dont les rôles structuraux et non structuraux contribuent à la persistance du virus (*Figure 1*).

Les chercheurs ont ensuite réalisé une analyse transcriptomique comparative, à l'échelle unicellulaire (*single cell RNA sequencing*, scRNAseq), de cellules infectées par le virus de génotype 3 produisant ou non ORF2 et de cellules non infectées. Les auteurs ont fait le choix de réaliser cette analyse 56 heures après l'infection, alors qu'ils avaient précédemment montré une différence d'activation de la réponse antivirale entre le virus Δ ORF2 et le virus non muté 5 jours après l'infection. Néanmoins, ce choix permet de mettre en lumière les événements précursus ou précoces de cette réponse antivirale et de s'affranchir de ses effets sur la réplication du virus. La surexpression précoce de gènes associés à la réponse antivirale mise en évidence par cette analyse était plus marquée en l'absence de ORF2, comme l'était l'augmentation de l'activité métabolique, caractérisée par une activation accrue de la glycolyse et de la phosphorylation oxydative. Ces résultats sont cohérents avec des données cliniques et expérimentales obtenues précédemment chez l'Homme et chez le singe macaque [13, 14].



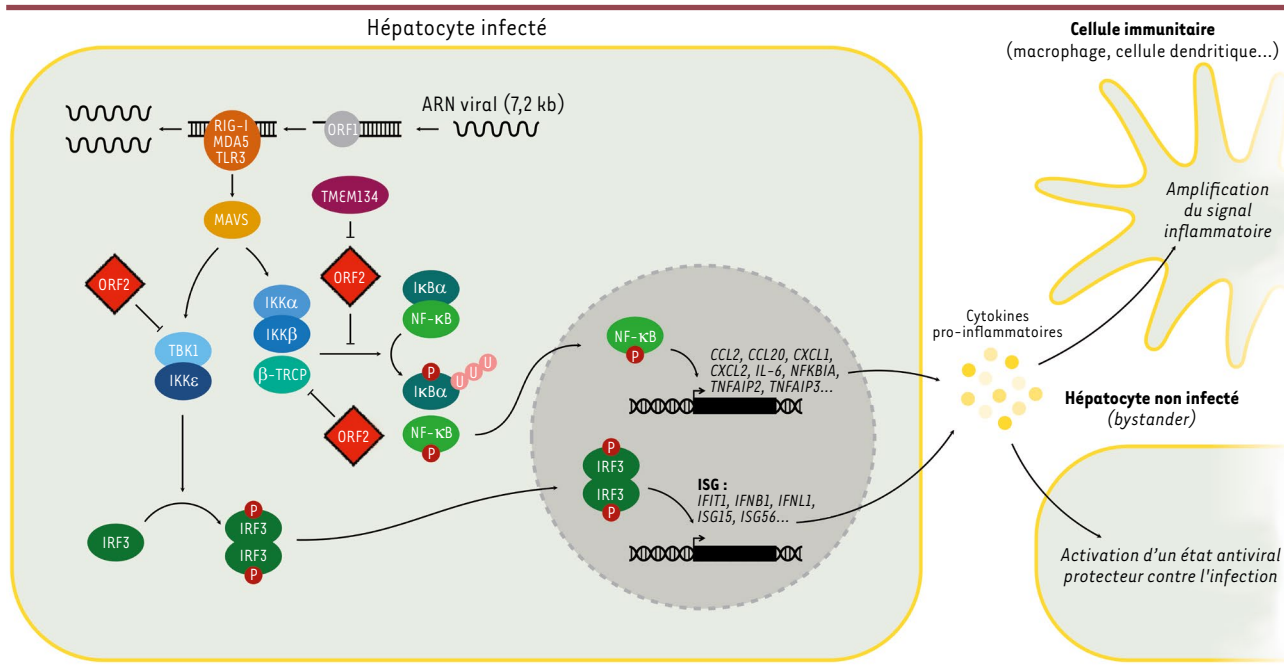


Figure 2. Inhibition de la réponse antivirale par la protéine ORF2 dans les hépatocytes infectés par le virus de l'hépatite E. La réplication du génome du virus par la polymérase virale ORF1 conduit à la formation d'intermédiaires ARN double brin. Ceux-ci, exposés dans le cytoplasme, peuvent être détectés par certains PRR (*pattern recognition receptors*) cellulaires (RIG-I, MDA5 ou TLR3), ce qui déclenche une cascade de signalisation aboutissant à la production de facteurs antiviraux et de cytokines pro-inflammatoires. Ces dernières ont pour rôle de transmettre un signal d'alerte paracrine aux hépatocytes adjacents non infectés (*bystanders*) et aux cellules immunitaires présentes dans le foie, telles que les macrophages résidents (cellules de Kupffer) ou les cellules dendritiques. La protéine virale ORF2, en se fixant notamment à TBK1 et à β -TRCP, aurait la capacité d'inhiber respectivement la voie de signalisation de l'interféron de type I et celle du TNF- α via NF- κ B. D'autres mécanismes de blocage de la réponse antivirale par ORF2 restent à découvrir.

Pour terminer, les auteurs ont cherché à caractériser la réponse globale d'une population cellulaire à l'infection par le virus. À partir des données de séquençage transcriptomique, ils ont classé chaque cellule en fonction du degré d'expression d'un ensemble de 400 ISG. Cette analyse a permis d'identifier deux grands *clusters* cellulaires : d'une part, des cellules « actives », caractérisées par une forte expression des ISG et donc engagées dans une réponse antivirale, et d'autre part des cellules « non actives ». Sur cette base, quatre populations distinctes ont été définies : 1) des cellules non infectées, ne contenant pas d'ARN viral et non actives ; 2) des cellules infectées répondeuses, contenant l'ARN viral, actives et présentant une activité métabolique élevée ; 3) des cellules infectées non répondeuses, contenant l'ARN viral mais non actives ; et 4) des cellules non infectées

mais actives. Cette dernière population pourrait correspondre soit à des cellules précédemment infectées ayant éliminé le virus grâce à leur réponse antivirale, hypothèse toutefois peu probable compte tenu de la précocité de l'analyse après l'infection, soit plus vraisemblablement à des cellules voisines de cellules infectées, dites « *bystanders* ». Par la détection de signaux inflammatoires paracrines émis par les cellules infectées, ces cellules *bystanders* acquièrent un phénotype pro-inflammatoire sans être elles-mêmes infectées. Ce mécanisme présente un double avantage pour l'hôte : à l'échelle individuelle, il permet à la cellule *bystander* de déclencher une réponse antivirale préventive, augmentant ses chances de contrôler efficacement une éventuelle infection ultérieure ; à l'échelle collective, il contribue à l'amplification du signal d'alerte, favorisant le recrutement

et l'activation des cellules immunitaires au sein du tissu infecté (Figure 2). En présence du virus Δ ORF2, la même analyse a révélé une activation accrue des ISG et une diminution du nombre de cellules contenant l'ARN viral, confirmant les conclusions établies précédemment. Les cellules *bystanders* des cellules infectées, dites « *bystanders* », par la détection de signaux inflammatoires paracrines émis par les cellules infectées, ces cellules *bystanders* acquièrent un phénotype pro-inflammatoire sans être elles-mêmes infectées. Ce mécanisme présente un double avantage pour l'hôte : à l'échelle individuelle, il permet à la cellule *bystander* de déclencher une réponse antivirale préventive, augmentant ses chances de contrôler efficacement une éventuelle infection ultérieure ; à l'échelle collective, il contribue à l'amplification du signal d'alerte, favorisant le recrutement et l'activation des cellules immunitaires au sein du tissu infecté (Figure 2). En présence du virus Δ ORF2, la même analyse a révélé une activation accrue des ISG et une diminution du nombre de cellules contenant l'ARN viral, confirmant les conclusions établies précédemment. Les cellules *bystanders* des cellules infectées, dites « *bystanders* », par la détection de signaux inflammatoires paracrines émis par les cellules infectées, ces cellules *bystanders* acquièrent un phénotype pro-inflammatoire sans être elles-mêmes infectées. Ce mécanisme présente un double avantage pour l'hôte : à l'échelle individuelle, il permet à la cellule *bystander* de déclencher une réponse antivirale préventive, augmentant ses chances de contrôler efficacement une éventuelle infection ultérieure ; à l'échelle collective, il contribue à l'amplification du signal d'alerte, favorisant le recrutement

par le virus de l'hépatite E, ces cellules sont susceptibles de détecter les signaux d'alerte émis par les hépatocytes infectés et d'agir comme des relais puissants de l'inflammation, grâce à leur forte capacité de sécrétion de cytokines, tant en quantité qu'en diversité (Figure 2). En contrepartie, la production de ORF2 par la cellule infectée limiterait ce processus, favorisant la persistance virale et, potentiellement, l'établissement d'une infection chronique. Cet équilibre subtil entre activation de la réponse antivirale de l'hôte et stratégies virales d'échappement immunitaire illustre la coévolution des virus avec leur hôte. Bien qu'aucun traitement spécifique de l'infection par le virus de l'hépatite E ne soit actuellement recommandé, faire basculer cet équilibre en faveur de la réponse antivirale (par stimulation de l'immunité, inhibition directe du virus, ou par une combinaison des deux) constitue un objectif central des stratégies thérapeutiques en cours de développement. ♦

The hepatitis E virus ORF2 capsid protein, a cornerstone of viral persistence

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt.

RÉFÉRENCES

1. Corneillie L, Mézière L, Montpellier C, et al. Update on the molecular and cellular biology of hepatitis E virus and therapeutic opportunities. *Antivir Res* 2026 ; 247 : 106353.
2. Devhare P, Madiyal M, Mukhopadhyay C, et al. Interplay between hepatitis E virus and host cell pattern recognition receptors. *Int J Mol Sci* 2021 ; 22 : 9259.
3. Mehnert AK, Stegmaier S, Alvarez CR, et al. The hepatitis E virus capsid protein ORF2 counteracts cell-intrinsic antiviral responses to enable persistent replication in cell culture. *PLoS Pathog* 2025 ; 21 : e1013516.
4. Surjit M, Varshney B, Lal SK. The ORF2 glycoprotein of hepatitis E virus inhibits cellular NF-κB activity by blocking ubiquitination mediated proteasomal degradation of IκBα in human hepatoma cells. *BMC Biochem* 2012 ; 13 : 7.
5. Tian Y, Huang W, Yang J, et al. Systematic identification of hepatitis E virus ORF2 interactome reveals that TMEM134 engages in ORF2-mediated NF-κB pathway. *Virus Res* 2017 ; 228 : 102-8.
6. Lin S, Yang Y, Nan Y, et al. The capsid protein of hepatitis E virus inhibits interferon induction via its N-terminal arginine-rich motif. *Viruses* 2019 ; 11 : 1050.
7. Hervouet K, Ferrié M, Ankavay M, et al. An arginine-rich motif in the ORF2 capsid protein regulates the hepatitis E virus lifecycle and interactions with the host cell. *PLoS Pathog* 2022 ; 18 : e1010798.
8. Joshi G, Décembre E, Brocard J, et al. Plasmacytoid dendritic cell sensing of hepatitis E virus is shaped by both viral and host factors. *Life Sci Alliance* 2025 ; 8 : e202503256.
9. Montpellier C, Wychowski C, Sayed IM, et al. Hepatitis E virus lifecycle and identification of three forms of the ORF2 capsid protein. *Gastroenterology* 2018 ; 154 : 211-23.e8.
10. Yin X, Ying D, Lhomme S, et al. Origin, antigenicity, and function of a secreted form of ORF2 in hepatitis E virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2018 ; 115 : 4773-8.
11. Bentaleb C, Hervouet K, Montpellier C, et al. The endocytic recycling compartment serves as a viral factory for hepatitis E virus. *Cell Mol Life Sci* 2022 ; 79 : 615.
12. Metzger K, Bentaleb C, Hervouet K, et al. Processing and subcellular localization of the hepatitis E virus replicase: Identification of candidate viral factories. *Front Microbiol* 2022 ; 13 : 828636.
13. Choi YH, Zhang X, Srinivasamoorthy G, et al. Transcriptome analysis in rhesus macaques infected with hepatitis E virus genotype 1/3 infections and genotype 1 re-infection. *PLoS One* 2020 ; 15 : e0237618.
14. Munshi SU, Taneja S, Bhavesh NS, et al. Metabonomic analysis of hepatitis E patients shows deregulated metabolic cycles and abnormalities in amino acid metabolism. *J Viral Hepat* 2011 ; 18 : e591-602.
15. Ankavay M, Dubuisson J, Cocquerel L. Le virus de l'hépatite E : un virus méconnu qui se dévoile. *Med Sci (Paris)* 2018 ; 34 : 1071-8.





Tarifs d'abonnement m/s - 2026

Abonnez-vous

à médecine/sciences

> Grâce à m/s, vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

Abonnez-vous sur

www.medecinesciences.org

