

Das Hepatitis-E-Virus – Neue Erkenntnisse zur gezielten Behandlung und Diagnose

Das Hepatitis-E-Virus (HEV) ist die häufigste Ursache für eine akute, virusbedingte Leberentzündung (Virushepatitis). Jährlich gibt es circa 15 bis 110 Millionen aktive Erkrankungen weltweit, die zu etwa 70.000 Todesfällen führen. In Europa gibt es keine zugelassenen Impfstoffe gegen HEV. Derzeitige Therapeutika sind nicht spezifisch, weisen starke Nebenwirkungen auf und können zu Resistenzen führen. Ein Forschungsteam des Paul-Ehrlich-Instituts hat bestimmte Vesikelstrukturen und Proteine identifiziert, die Ziele für eine Behandlung sein könnten und zu einem neuen Verständnis der Weitergabe des viralen Erbgutes auch im Hinblick auf Diagnostik beitragen.

Häufige Symptome einer Leberentzündung durch Hepatitis-E-Viren (HEV) sind u. a. Fieber, Bauchschmerzen, blasser Stuhl, Übelkeit und Gelbsucht. Zu den Risikogruppen dieser Infektion gehören Personen mit geschwächtem Immunsystem (Immunsupprimierte) sowie schwangere Frauen. Immunsupprimierte leiden häufig an chronischen Infektionen, was häufig im globalen Norden der Fall ist. Schwangere durchlaufen nicht selten einen schweren Krankheitsverlauf (fulminante Hepatitis), was mit Sterblichkeitsraten von bis zu 30 Prozent verbunden ist und primär im globalen Süden auftritt. Die geografischen Unterschiede lassen sich dadurch erklären, dass in den nördlichen Regionen vorwiegend zoonotische, durch Lebensmittel übertragene HEV-Stämme (Genotyp 3 und 4) zirkulieren, während in den südlichen Regionen vor allem durch Wasser übertragene Genotypen 1 und 2 vorkommen.

Bisher gibt es in Europa keine zugelassenen Impfstoffe gegen HEV. Zwar gibt es Arzneimittel, die bei Infektionen eingesetzt werden, aber die Behandlungsmöglichkeiten sind nach wie vor begrenzt und mit starken Nebenwirkungen oder einer Resistenzentwicklung verbunden. Dies ist auch auf ein mangelndes Verständnis großer Teile des viralen Lebenszyklus zurückzuführen.

Virales Polyprotein pORF1 - zentral für die Vermehrung des viralen Erbguts und dennoch fast unbekannt

Die Vervielfältigung der genetischen Informationen von HEV (Genomreplikation) wird über das virale Polyprotein pORF1 vermittelt. Das Protein besteht aus verschiedenen Bereichen oder Domänen. Eine Proteindomäne ist eine stabil gefaltete Struktur innerhalb eines Proteins, die funktional und strukturell unabhängig von benachbarten Proteinabschnitten ist. pORF1 ist das zentrale Protein für die Replikation (Replikase), das heißt für die Vervielfältigung der genetischen Information des Virus. Wenig ist jedoch ansonsten über pORF1 bekannt, auch nicht seine genaue Lokalisation innerhalb infizierter Zellen.

Forscherinnen und Forscher um Dr. Mirco Glitscher in der Arbeitsgruppe von Prof. Eberhard Hildt, Leiter der Abteilung Virologie des Paul-Ehrlich-Instituts, haben sich mit dieser wichtigen Unbekannten des HEV beschäftigt. Hierzu wurde die subzelluläre Lokalisierung von pORF1 und dessen einzelner Domänen, die auf der Grundlage einer Strukturvorhersage der viralen Replikase generiert und kloniert worden waren, mithilfe der konfokalen Laser-Scanning-Mikroskopie analysiert. Die aus den Zellen freigesetzten Exosomen wurden darüber hinaus durch Ultrazentrifugation isoliert und durch isopyknische (Trennung nach gleicher Dichte)

Dichtegradientenzentrifugation analysiert. Anschließend wurden die abgetrennten Partikel durch Fluorimetrie, Western-Blot-Analysen oder RT-qPCR genauer untersucht.

Das Vesikelsystem als Dreh- und Angelpunkt der Virusvermehrung

Das Forschungsteam stellte fest, dass sich pORF1 im Vesikelsystem der Zelle – dem endosomalen System – anreichert und hier vor allem in den sogenannten multivesikulären Körpern (multivesicular bodies, MVBs). Diese Strukturen sind zentral für die Bildung von Exosomen und wurden bisher nur als Wirtstruktur zur Freisetzung von Viruspartikeln des HEV angesehen. Dass auch die virale Replikase hier zu finden ist, wurde als abhängig von einer pORF1-Domäne, der PCP (papainähnliche Cystein-Protease) identifiziert. Das Forschungsteam hat jetzt herausgefunden, dass auch die virale Replikase über Exosomen freigesetzt wird. Dieser Prozess wird durch die virale Protease, die Teil der Replikase ist, vermittelt. Auch führt dies dazu, dass Virusgenome sogar in Abwesenheit von Viruspartikeln über diesen Weg freigesetzt werden.

Gemeinsame Freisetzung für schnelle Vermehrung

Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass pORF1 in einer PCP-abhängigen Weise in MVBs gelangt, woraufhin die exosomale Freisetzung folgt. Möglicherweise sind also die Freisetzung des Virus und die Replikation, die Vervielfältigung der genetischen Informationen, räumlich gekoppelt. Dies könnte die Ausbreitung der viralen Infektion erleichtern, da Genome, die während einer Neuinfektion in die Zelle gelangen, schnell auf exosomal übertragenes pORF1 treffen und vervielfältigt werden können. Außerdem weisen die erhobenen Daten darauf hin, dass das Kapsid nicht zwangsläufig zur Freisetzung von Erbgut benötigt wird.

Die Exosomen und damit in Verbindung stehende Proteinstrukturen könnten geeignete Angriffspunkte für Therapeutika gegen HEV sein, weil so gegebenenfalls der Zellaustritt und die Vermehrung unterbunden werden könnten. Für die Diagnostik hat die kapsidunabhängige Freisetzung der HEV-Genome durchaus Auswirkungen, da bisher eine Korrelation von Viruspartikelmenge und Virusgenomen angenommen wird. Dass genomische RNA jedoch auch ohne Kapsid in Exosomen vorliegen kann, muss auf Relevanz diagnostischer Verfahren überprüft werden.

Originalpublikation:

Glitscher M, Spannaus IM, Behr F, Murra RO, Woytinek K, Bender D, Hildt E (2024): The protease domain in HEV pORF1 mediates the replicase's localization to multivesicular bodies and its exosomal release.

Cell Mol Gastroenterol Hepatol Jan 6 [Epub ahead of print].

DOI: 10.1016/j.jcmgh.2024.01.001