

## · 综述 ·

# 自噬和氧化应激在乙型肝炎病毒感染及肝细胞癌中的作用机制

刘培 王凯

山东大学齐鲁医院肝病科, 济南 250012

通信作者: 王凯, Email: wangdoc2010@163.com

**【摘要】** 乙型肝炎病毒是一种嗜肝性双链 DNA 病毒, 其慢性感染依然是全球公共卫生面临的重大挑战, 临床根治亦存在显著难题。已有研究明确证实, 乙型肝炎病毒感染能够激活宿主细胞自噬及氧化应激反应。进一步证据显示, 自噬与氧化应激在乙型肝炎病毒持续感染及肝细胞癌的发生与发展过程中, 扮演着重要的病理角色, 并且二者之间存在交互调控关系。本综述系统性地解析了乙型肝炎病毒感染及其相关肝细胞癌进程中, 自噬与氧化应激的分子调控网络, 重点探讨了自噬与核因子 E2 相关因子 2/Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1 抗氧化通路之间的交互作用机制, 旨在为临床慢性乙型肝炎及肝细胞癌的靶向治疗提供创新性的理论依据。

**【关键词】** 乙型肝炎病毒; 肝细胞癌; 自噬; 氧化应激; Nrf2-Keap1 通路

**基金项目:** 国家自然科学基金 (82272313)

DOI:10.3760/cma.j.cn331340-20250426-00053

## The role of autophagy and oxidative stress in hepatitis B virus infection and hepatocellular carcinoma

Liu Pei, Wang Kai

Department of Hepatology, Qilu Hospital, Shandong University, Jinan 250012, China

Corresponding author: Wang Kai, Email: wangdoc2010@163.com

**【Abstract】** Hepatitis B virus is a hepatotropic partially double-stranded DNA virus, and its chronic infection remains a global public health challenge, with clinical eradication remaining a significant obstacle. Substantial evidence has confirmed that Hepatitis B virus infection can activate host cellular autophagy and oxidative stress responses. Further evidence suggests that these two processes play pivotal pathological roles in hepatitis B virus persistence and hepatocellular carcinoma (HCC) pathogenesis, exhibiting a complex interplay through bidirectional regulatory mechanisms. This review systematically dissects the molecular regulatory networks of autophagy and oxidative stress during Hepatitis B virus infection and subsequent HCC development, with particular emphasis on the interaction mechanisms between autophagy and the nuclear factor E2-related factor 2/Kelch-like ECH-associated protein-1 antioxidant pathway. The aim is to provide novel theoretical foundations for targeted therapies in chronic hepatitis B and HCC.

**【Key words】** Hepatitis B virus; Hepatocellular carcinoma; Autophagy; Oxidative stress; Nrf2-Keap1 pathway

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (82272313)

DOI:10.3760/cma.j.cn331340-20250426-00053

据 WHO 估计, 2019 年全球约有 2.96 亿慢性 HBV 感染者, 每年约有 150 万新发感染者, 导致约 82 万人死亡<sup>[1]</sup>。中国疾病预防控制中心的统计数据显示, 我国现存慢性 HBV 感染者约 8 600 万例<sup>[2]</sup>。目前用于慢性 HBV 感染患者的治疗药物包括免疫调节剂 (IFN $\alpha$ -2b 和聚乙二醇 IFN $\alpha$ -2a) 和核苷 (酸) 类似物 (NAs) 等抗病毒药物, 以及相对安全有效的 HBV 预防疫苗<sup>[3]</sup>。然而, 即使经过长期抗病毒治疗, 现有方案仍难

以完全清除 HBV cccDNA, 导致病毒难以彻底根除。且在宿主免疫功能受损时, HBV 可能被重新激活。此外, 慢性 HBV 感染显著增加 HCC 的发生风险。因此, 探寻新的治疗策略以控制乙型肝炎进展并防止 HCC 发生至关重要。

自噬通过细胞器、蛋白质和大分子的降解以及分解产物的再循环, 在细胞的生存和维持中起着重要的作用。自噬发挥作用主要分为 4 个步骤: 自噬的起始, 吞噬囊泡形成, 吞噬

细胞扩张并形成自噬体,自噬降解形成自溶酶体。作为一种重要的胞内降解途径,自噬能帮助机体抵御外源性病原体侵害并缓解内源性炎症反应<sup>[4]</sup>。自噬功能紊乱与多种疾病的发病机制密切相关,这些疾病常伴有炎症过程,包括感染、自身免疫性疾病、癌症、代谢性疾病、神经退行性病变、心血管疾病及肝脏疾病等。研究表明,HBV 能够调控宿主细胞的自噬通路,而自噬相关分子亦能反馈调节 HBV 的复制与病毒蛋白的表达。本文将详细阐述自噬与 HBV 感染、预后及疾病进展之间的相互作用,以期对乙型肝炎控制与治疗提供新视角。

## 一、HBV 影响自噬过程

### 1. HBV 对自噬过程的调控

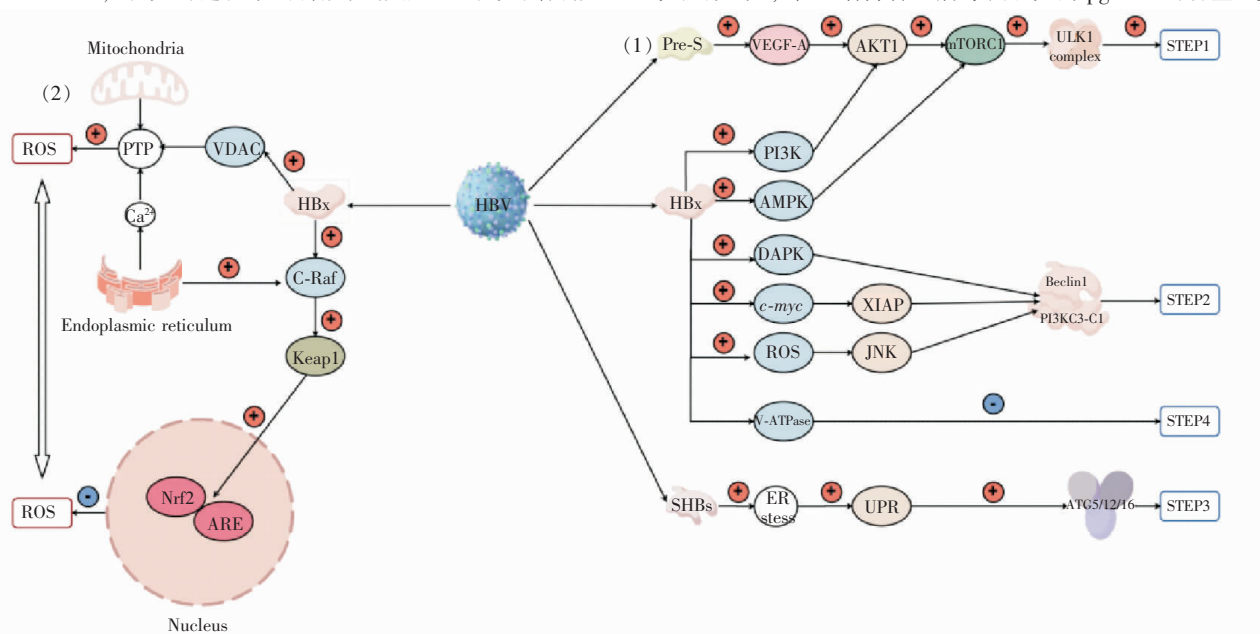
目前研究主要集中在 HBV 的几种蛋白,如大表面抗原前 S 区(Pre-S)、HBx 蛋白以及小表面抗原,如何影响自噬的不同阶段。具体影响过程见图 1。在自噬起始阶段,HBV 主要通过调控 ULK1 激酶复合物的活性发挥作用。HBx 蛋白可通过激活腺苷三磷酸活化蛋白激酶(adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK)通路来启动自噬,亦可与 Pre-S 蛋白一样,通过不同信号通路间接抑制雷帕霉素靶蛋白复合体 1 (mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1) 的活性,从而解除 mTORC1 对自噬的抑制作用<sup>[5]</sup>。在吞噬细胞形成环节,HBx 与 Beclin-1/Ⅲ类磷脂酰肌醇 3 激酶复合体 1 (PI3KC3-C1) 相关的途径中去磷酸化/激活死亡相关蛋白激

酶(death-associated protein kinase, DAPK)激活自噬<sup>[6]</sup>;此外,HBx 还能与 *c-myc* (禽类骨髓瘤病毒癌基因同源基因)相互作用,抑制 microRNA-192-3p (微小 RNA) 的表达;而 miR-192-3p 可直接靶向 X 连锁凋亡抑制蛋白(X-linked inhibitor of apoptosis protein, XIAP)mRNA 的 3' 非翻译区(3'UTR),通过调控 NF- $\kappa$ B 信号通路影响 Beclin-1 的表达,从而参与自噬的调控。HBx 通过抑制 miR-192-3p,间接解除了对 XIAP 的抑制,进而上调 Beclin-1 并诱导自噬<sup>[7]</sup>。另有研究表明,HBx 还可通过诱导活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生来激活自噬,此过程可能与 ROS/c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)通路相关<sup>[8]</sup>。在自噬体形成溶酶体环节,HBx 还可以通过影响溶酶体的酸化过程影响自噬<sup>[9]</sup>,而在自噬体形成过程中,则主要是小表面抗原发挥作用,其可通过增加内质网过程介导未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR),促进 ATG5-12-16L 复合体影响自噬过程<sup>[10]</sup>。

### 2. 自噬干预 HBV 复制、翻译

#### (1) 自噬对 HBV 复制的影响

研究表明,使用自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤(3-MA)或利用 siRNA 敲低自噬关键基因后,细胞内 HBV DNA 的复制水平下降<sup>[11]</sup>。进一步研究发现,自噬主要影响前基因组 RNA (pgRNA) 的包装过程,抑制自噬虽对细胞内 pgRNA 的总水平影响不大,但显著降低了病毒核衣壳内 pgRNA 的含量<sup>[12]</sup>。



注:(1)Step1:自噬的起始;Step2:吞噬囊泡形成;Step3:吞噬细胞扩张并形成自噬体;Step4:干扰 HBV 自噬降解形成自溶酶体;(2) HBV 影响氧化应激平衡;Mitochondria:线粒体;Endoplasmic reticulum:内质网;Nucleus:细胞核;PTP:渗透过渡孔;VDAC:电压依赖性阴离子通道;Pre-S:前 S 区;VEGF-A:血管内皮生长因子 A;AKT1:蛋白激酶 B1;mTORC1:雷帕霉素靶蛋白复合体 1;AMPK:腺苷三磷酸活化蛋白激酶;DAPK:死亡相关蛋白激酶;c-myc:禽类骨髓瘤病毒癌基因同源基因;XIAP:X 连锁凋亡抑制蛋白;JNK:c-Jun 氨基末端激酶;PI3KC3-C1:Ⅲ类磷脂酰肌醇 3 激酶复合体 1;UPR:未折叠蛋白反应;Nrf2:核因子 E2 相关因子 2;ROS:活性氧

图 1 HBV 影响自噬各个过程

这表明自噬可能通过促进 pgRNA 包装入病毒核衣壳来支持 HBV DNA 的复制。

## (2) 自噬干预 HBV 翻译过程

研究发现, 利用 RNA 干扰技术沉默 Atg5、Atg12 或 Atg16L1 基因后, HBV 核心蛋白(HBcAg)的合成受阻, 其向病毒组装/包膜部位的运输过程也发生障碍, 导致核心蛋白与病毒包膜的结合效率下降。分子机制研究表明, HBV 核心蛋白与 Atg12 的内在紊乱区域和 Atg5-12/16L1 复合物相互作用<sup>[10]</sup>。另一项研究通过比较自噬抑制细胞与对照细胞中不同部位的病毒核酸数量(包括胞外病毒颗粒、胞内病毒颗粒及胞内核衣壳), 发现自噬机制对于 HBV 获得包膜(即病毒颗粒的成熟)至关重要, 但并不影响成熟病毒颗粒的释放效率<sup>[13]</sup>。免疫荧光实验显示, HBV 小表面抗原与自噬标记蛋白 LC3 存在部分共定位, 并且两者之间存在分子相互作用, 这提示自噬体结构可能为 HBV 的包膜化过程提供了膜来源或支架平台<sup>[10]</sup>。可见, 自噬过程可通过多种机制促进 HBV 病毒颗粒的成熟。

## 二、氧化应激的定义及作用

核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor E2-related factor 2, Nrf2)在多种组织和细胞中广泛表达, 可调控大量细胞保护性基因的表达<sup>[14-15]</sup>。在稳态下, Nrf2 与其抑制蛋白 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1 (Kelch-like ECH-associated protein-1, Keap1)结合, 后者通过其 Kelch 结构域与 Nrf2 的 Neh2 结构域相互作用, 将 Nrf2 锚定在胞质中并促进其泛素化降解, 从而抑制其转录活性。在氧化应激条件下, Keap1 的构象发生改变, 导致 Nrf2 从 Keap1 复合物中释放, 进入细胞核并激活下游抗氧化基因。有研究表明, 氧化应激参与多种炎症性疾病的病理过程, 在 HBV 感染进程中, 也观察到 ROS 水平升高。因此, 探究 HBV 如何诱发氧化应激以及靶向抗氧化通路能否控制乙型肝炎的进展, 已成为当前研究的热点。

### 1. HBx 和大表面抗原诱导 ROS 生成

研究表明, HBx 通过定位于线粒体并与外膜(如电压依赖性阴离子通道 3)相互作用, 同时增加细胞质与线粒体中  $\text{Ca}^{2+}$  浓度, 共同影响渗透过渡孔功能, 最终破坏线粒体膜完整性及膜电位, 诱导线粒体 ROS 产生<sup>[13, 16]</sup>。大表面抗原的过表达导致内质网的滞留和积累, 引发内质网应激并激活 UPR<sup>[13]</sup>, 导致内质网钙库中的  $\text{Ca}^{2+}$  释放至胞质, 进一步促进线粒体产生 ROS<sup>[17]</sup>。

### 2. HBV 激活 Nrf2-抗氧化反应元件通路以调控 ROS 平衡

鉴于 Nrf2-抗氧化反应元件通路在肝脏再生、纤维化及肝硬化等过程中的重要作用, HBV 如何调控该通路已成为一个主要的研究焦点<sup>[18]</sup>。HBx 和大表面抗原是转录激活剂。这两种病毒调节蛋白均可激活 c-Raf 激酶, 而这对于 HBV 介导的

Nrf2 激活至关重要。Nrf2 一旦被激活, 便会入核启动一系列含有抗氧化反应元件的细胞保护基因的转录。因此, 在 HBV 表达的细胞中, 这些细胞保护基因的上调有助于清除过量 ROS, 减轻氧化损伤<sup>[19]</sup>(详见图 1)。

## 三、自噬参与 HCC 发展过程

有研究表明, 缺失混合谱系激酶域样蛋白(mixed lineage kinase domain-like, MLKL)会增强自噬活性, 从而抑制 HCC 的发生。MLKL 充当 AMPK $\alpha$ 1 和蛋白磷酸酶 1B 之间的桥接分子, 从而增强 AMPK $\alpha$ 1 的去磷酸化。在 HCC 患者中, MLKL 在抑制自噬和驱动 HCC 发生方面起关键作用<sup>[19]</sup>。硫氧还蛋白还原酶 1(sulfiredoxin-1, SRXN1)分别在遗传和药理水平促进 HCC 的细胞增殖。SRXN1 抑制后溶酶体生物发生自噬通量增强<sup>[20]</sup>。也有研究证实, 在 HCC 中, 自噬水平明显降低, 与癌旁组织相比, HBV 相关性 HCC 患者肿瘤组织中自噬相关基因 Beclin1 和 ATG5 的表达水平降低, 同时自噬水平降低<sup>[21]</sup>。从目前的研究来看, 自噬在导致癌症的方面存在争议, 有研究表明自噬可促进 HCC 的发生, 也有研究表明其可抑制 HCC 的进程; 在癌症的早期, 自噬的作用增强或可抑制癌症, 但是随着疾病的进程, 癌细胞产生免疫逃逸, 则无法被自噬过程清除。

## 四、ROS 介导 HCC 发生

ROS 影响基因组和线粒体 DNA 的完整性, 是 HCC 发生的重要因素。有证据表明, HBV 感染细胞中 DNA 的氧化损伤与 DNA 单链断裂有关。据此, 研究人员描述了 HBV 感染细胞中参与 DNA 链断裂修复的细胞周期调控蛋白(ATM-Chk2)通路的激活<sup>[22]</sup>。根据经典的两步癌变模型, 该模型包含两个步骤(起始和促进), 升高的 ROS 水平可以实现引发剂的功能, 导致 DNA 中关键突变的积累。调节蛋白的表达可以通过激活介导这些细胞的积极选择/生长优势的途径来发挥肿瘤启动子样功能<sup>[23]</sup>。此外, 链断裂的诱导可能是介导病毒 DNA 整合到宿主基因组中的一个因素。不同 HBV 基因型对 ROS 水平的影响以及 ROS 水平对 DNA 整合形成的影响尚不清楚。几乎所有 HBV 相关的 HCC 都含有染色体整合 DNA。由于 HBV 基因组为环状结构, 基于整合的 DNA 不能形成感染性病毒颗粒, 但会发生调控蛋白的表达<sup>[24]</sup>。氧化应激在当前的研究中往往提示着损伤, 破坏内环境的稳定, 进而引发基因发生突变。在 HCC 的发展进程中, 氧化应激同样扮演着负面角色。

## 五、结语

HBV 可以影响自噬各环节, 起着促进或抑制的作用。自噬也可以参与 HBV 的复制及翻译过程, 在 HCC 的作用方面自噬存在两面性; 在 HCC 早期, 自噬过程起着抑癌作用, 帮

助机体清除有害物质、损伤细胞器,而在晚期其存在促进作用。未来可以通过早期检测自噬过程的表达,为癌症的治疗提供了新的监测点及靶点。

急性或慢性 HBV 感染患者体内 ROS 水平升高可能是一个多因素参与的复杂过程。从原则上讲,这一现象可以通过诱导细胞保护机制来得到补偿。鉴于此,HBV 患者体内 ROS 水平的升高可能反映了细胞保护机制的受损,或者更可能是解毒系统超负荷运转所致。因此,在 CHB 和 HCC 的治疗中加入抗氧化应激药物进行辅助治疗,或许能够实现 CHB 的完全治愈以及 HCC 的有效控制。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参 考 文 献

- [1] Jeng WJ, Papatheodoridis GV, Lok ASF. Hepatitis B[J]. *Lancet*, 2023, 401(10381): 1039-1052. DOI: 10.1016/S0140-6736(22)01468-4.
- [2] Cui F, Shen L, Li L, et al. Prevention of chronic hepatitis B after 3 decades of escalating vaccination policy, China[J]. *Emerg Infect Dis*, 2017, 23(5): 765-772. DOI: 10.3201/eid2305.161477.
- [3] Nassal M. HBV cccDNA: Viral persistence reservoir and key obstacle for a cure of chronic hepatitis B[J]. *Gut*, 2015, 64(12): 1972-1984. DOI: 10.1136/gutjnl-2015-309809.
- [4] Deretic V. Autophagy in inflammation infection and immunometabolism [J]. *Immunity*, 2021, 54 (3): 437-453. DOI: 10.1016/j.immuni.2021.01.018.
- [5] Wang X, Lin Y, Liu S, et al. O-GlcNAcylation modulates HBV replication through regulating cellular autophagy at multiple levels [J]. *FASEB J*, 2020, 34 (11):14473-14489. DOI: 10.1096/fj.202001168RR.
- [6] Kim J, Kwon H, Kalsoom F, et al. Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II inhibits hepatitis B virus replication from cccDNA via AMPK activation and AKT/mTOR suppression [J]. *Microorganisms*, 2022, 10(3): 498. DOI: 10.3390/microorganisms10030498.
- [7] Wang J, Chen J, Liu Y, et al. Hepatitis B virus induces autophagy to promote its replication by the axis of miR-192-3p-XIAP through NF kappa B signaling[J]. *Hepatology*, 2019, 69(3):974-992. DOI: 10.1002/hep.30248.
- [8] Zhong L, Shu W, Dai W, et al. Reactive oxygen species-mediated c-Jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase activation contributes to hepatitis B virus x protein-induced autophagy via regulation of the Beclin-1/Bcl-2 interaction [J]. *J Virol*, 2017, 91 (15)e: 00001-17. DOI: 10.1128/JVI.00001-17.
- [9] Zhou T, Jin M, Ding Y, et al. Hepatitis B virus dampens autophagy maturation via negative regulation of Rab7 expression [J]. *Biosci Trends*, 2016, 10(4):244-250. DOI: 10.5582/bst.2016.01049.
- [10] Li Q, Wen W, Wang Y, et al. Autophagy-related protein 5 (ATG5) interacts with bone marrow stromal cell antigen 2 (BST2) to stimulate HBV replication through antagonizing the antiviral activity of BST2[J]. *J Med Virol*, 2024, 96(5): e29659. DOI: 10.1002/jmv.29659.
- [11] Liu GY, Sabatini DM. mTOR at the nexus of nutrition, growth, ageing and disease [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21 (4): 183-203. DOI: 10.1038/s41580-019-0199-y.
- [12] Wang X, Hu H, Hu B, et al. Dihydromyricetin inhibits hepatitis B virus replication by activating NF-κB, MAPKs, and autophagy in HepG2.2.15 cells[J]. *Mol Biol Rep*, 2023, 50(2): 1403-1414. DOI: 10.1007/s11033-022-07971-4.
- [13] Zahoor M, Farhan H. Crosstalk of autophagy and the secretory pathway and its role in diseases [J]. *Int Rev Cell Mol Biol*, 2018, 337: 153-184. DOI: 10.1016/bs.ircmb.2017.12.004.
- [14] Thiruvengadam R, Venkidasamy B, Samynathan R, et al. Association of nanoparticles and Nrf2 with various oxidative stress-mediated diseases[J]. *Chem Biol Interact*, 2023, 380:110535. DOI: 10.1016/j.cbi.2023.110535.
- [15] Bender D, Hildt E. Effect of hepatitis viruses on the Nrf2/Keap1-signaling pathway and its impact on viral replication and pathogenesis[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(18): 4659. DOI: 10.3390/ijms20184659.
- [16] Liu B, Fang M, He Z, et al. Hepatitis B virus stimulates G6PD expression through HBx-mediated Nrf2 activation [J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6(11):e1980. DOI: 10.1038/cddis.2015.322.
- [17] Zou LY, Zheng BY, Fang XF, et al. HBx co-localizes with COXIII in HL-7702 cells to upregulate mitochondrial function and ROS generation[J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(5):2461-2467. DOI: 10.3892/or.2015.3852.
- [18] Reina S, Guarino F, Magrì A, et al. VDAC3 As a potential marker of mitochondrial status is involved in cancer and pathology [J]. *Front Oncol*, 2016, 6:264. DOI: 10.3389/fonc.2016.00264.
- [19] Casciano JC, Bouchard MJ. Hepatitis B virus X protein modulates cytosolic Ca<sup>2+</sup> signaling in primary human hepatocytes [J]. *Virus Res*, 2018, 246:23-27. DOI: 10.1016/j.virusres.2018.01.001.
- [20] Kalantari L, Ghotbabad ZR, Gholipour A, et al. A state-of-the-art review on the NRF2 in hepatitis virus-associated liver cancer[J]. *Cell Commun Signal*, 2023, 21(1):318. DOI: 10.1186/s12964-023-01351-6.
- [21] Yu X, Feng M, Guo J, et al. MLKL promotes hepatocarcinogenesis through inhibition of AMPK-mediated autophagy[J]. *Cell Death Differ*, 2024, 31(8):1085-1098. DOI: 10.1038/s41418-024-01314-5.
- [22] Lubyova B, Tikalova E, Krulova K, et al. ATM-dependent phosphorylation of hepatitis B core protein in response to genotoxic stress[J]. *Viruses*, 2021, 13(12): 2438. DOI: 10.3390/v13122438.
- [23] Huang R, Chen H, Liang J, et al. Dual role of reactive oxygen species and their application in cancer therapy[J]. *J Cancer*, 2021, 12(18): 5543-5561. DOI: 10.7150/jca.54699.
- [24] Rao Q, Guo M, Sun J, et al. Sulfiredoxin-1 promotes the growth of hepatocellular carcinoma by inhibiting TFEB-mediated autophagy and lysosome biogenesis [J]. *Exp Cell Res*, 2024, 441(2):114169. DOI: 10.1016/j.yexcr.2024.114169.

(收稿日期:2025-04-26)