

自噬在乙型肝炎病毒感染中的作用及研究现状

黄润 汤正好

上海交通大学附属第六人民医院感染病科 200233

通信作者:汤正好,Email:tzhhao@163.com

【摘要】 自噬是真核细胞中广泛存在的一种分解代谢途径,在固有免疫和适应性免疫中发挥着重要作用,特别是在 HBV 感染中,自噬扮演着不可或缺的角色。因此,探究自噬与 HBV 感染之间的关系,寻求新的作用靶点和药物,可以促进 HBV 相关疾病的治疗。本文就自噬在 HBV 感染中的作用及研究现状作一综述。

【关键词】 自噬;肝炎病毒,乙型;腺苷单磷酸激活蛋白激酶;哺乳动物雷帕霉素靶蛋白;miRNA;免疫应答

DOI:10.3760/cma.j.cn331340-20191209-00220

The role of autophagy in hepatitis B virus infection and its research advances

Huang Run, Tang Zhenghao

Department of Infectious Diseases, the Sixth People's Hospital affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

Corresponding author: Tang Zhenghao, Email: tzhhao@163.com

【Abstract】 Autophagy is a catabolic pathway widely found in eukaryotic cells, and it plays an important role in innate and adaptive immunity, especially in HBV infection. Therefore, to explore the relationship between autophagy and HBV infection and to seek new targets and drugs can have great value for promoting the treatment of HBV-related diseases. The role of autophagy in HBV infection and its research progress are reviewed in this article.

【Key words】 Autophagy; Hepatitis B virus; Adenosine monophosphate-activated protein kinase; Mammalian target of rapamycin; microRNAs; Immune response

DOI:10.3760/cma.j.cn331340-20191209-00220

自噬与 HBV 感染之间存在着错综复杂的关系,一方面 HBV 可以触发自噬过程利于病毒复制^[1],另一方面自噬可参与 HBV 整个生命周期^[2],并且在 HBV 清除中也发挥着重要作用,极可能成为未来治疗 HBV 感染的新靶标,为 HBV 相关的慢性肝炎、肝纤维化和肝细胞癌(HCC)的诊治提供新的思路 and 选择。

一、自噬的定义及作用

自噬通过双膜囊泡将长寿蛋白质和受损细胞器隔离在细胞质中,经溶酶体途径分解代谢,以促进物质循环利用和维持细胞能量平衡^[3]。自噬不仅对细胞生长发育、分化成熟至关重要,而且与病毒感染、自身免疫及疾病发展等过程密切相关^[4]。在 HBV 相关疾病的发展过程中,早期自噬可促进 HBV 复制,使肝脏感染状况持续恶化,从而使感染慢性化,但当进展为 HCC 时,活化的自噬又可以通过调控细胞凋亡发挥抗肿瘤免疫反应来减缓肿瘤的进展^[5]。

二、自噬参与 HBV 复制

1. 自噬参与 HBV DNA 合成促进 HBV 复制

HBV 可以激活早期自噬途径,促进病毒 DNA 复制。研究显示,HBV 及其编码的 HBV X 蛋白(HBx)可以增强自噬,HBx 作为 HBV 的产物,在调节细胞生命周期和促进病毒复制中具有重要作用。在 HBx 刺激下,细胞内自噬基因 Beclin 1(BECN1)、III 型磷脂酰肌醇三磷酸激酶(PI3KC3)、沉默调节蛋白 1(Sirt1)、活性氧/c-JunN 端激酶(ROS/JNK)和腺苷单磷酸激活蛋白激酶(AMPK)蛋白都被上调,这些激活的蛋白及其下游途径都可引起细胞自噬,进而增强 HBV 复制^[6]。与此同时,抑制自噬会显著降低 HBV DNA 水平,而 pgRNA 包装和 HBV RNA 水平却轻度减少,这也进一步证明自噬对 HBV 复制的促进作用。

2. 自噬参与 AMPK 通路介导的 HBV 复制

与自噬相似,AMPK 通路也是一种保守的能量平衡机

制,当细胞处于氧化应激时,胞内 ATP 降低,AMPK 被激活,通过急性调节代谢酶和抑制合成代谢途径以恢复 ATP 水平,维持细胞正常功能。慢性 HBV 感染导致宿主细胞持续氧化应激,AMPK 为响应氧化应激而被激活,活化的 AMPK 通过调节早期自噬事件,如激活人类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(ULK1)磷酸化^[7]、活化 PIK3C3/VPS34 复合物^[8]和抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)^[9]来触发自噬启动。但在自噬后期,AMPK 可通过活化蛋白激酶 AMP 的催化亚基 α (PRKAA)促进自噬降解。由此可见,AMPK 诱导的早期自噬有益于 HBV 复制,但后期自噬降解增加可能会限制 HBV 的产生。

3. 自噬通过 mTOR 信号通路促进 HBV 复制

mTOR 信号通路对细胞代谢同样有着深远的影响。在营养丰富的条件下,mTOR 亚基 1(mTORC1)通过刺激生物合成途径促进细胞生长,同时通过抑制自噬过程来抑制细胞分解代谢^[10],它与能量传感器 AMPK 相互关联,共同决定细胞是否积极地进行合成代谢或分解代谢过程。最新的一项研究表明,细胞在低葡萄糖浓度下,AMPK 活性增加并导致 LC3-II 积累和 ULK1 磷酸化,促进自噬发生,而高糖浓度则激活 mTOR 通路,导致 HBV 复制减少,使用雷帕霉素抑制 mTOR 可逆转高糖浓度对 HBV 复制的抑制作用;同样地,抑制葡萄糖转运蛋白(GLUTs)也能增强 AMPK/mTOR-ULK1 诱导的自噬,从而促进 HBV 复制^[11]。另一项研究也表明,葡萄糖胺(GlcN)通过抑制自噬降解和 mTORC1 信号转导的双重作用,诱导自噬应激有效地促进 HBV 复制^[12]。此外,Chen 等^[13]也表明 ROS/JNK 通路和 mTOR/AKT 通路介导的自噬在顺铂诱导 HBV 激活中起重要作用,当使用氯喹、3-甲基腺嘌呤抑制自噬时,可显著减弱顺铂诱导的 HBV 复制。

4. 自噬通过 miRNA 影响 HBV 复制

近来的研究表明,miRNA、HBV 和自噬之间的相互作用共同影响着 HBV 复制水平,并在持续性 HBV 感染中起重要作用。研究显示,HBV 感染患者中的病毒 DNA 水平与细胞 miRNA miR-192-3p 水平成反比,HBV 通过 HBx 蛋白诱导自噬抑制 miR-192-3p 表达。然而,miR-192-3p 作用于靶标(X 连锁凋亡蛋白抑制剂 XIAP),通过激活 NF- κ B 途径促进自噬,增强 HBV 复制^[14]。同样的,miR-146a-5p 也能通过靶向 XIAP 介导的 MDM2/p53 轴来调节自噬诱导的 HBV 复制水平^[15]。此外,还有研究表明 miR-99 家族在 HBV 转录后通过 IGF-1R/PI3K/AKT/mTOR/ULK1 信号通路诱导自噬增强从而促进 HBV 复制^[7]。

三、自噬参与 HBV 免疫清除

1. 自噬促进 HBV 诱导的特异性 CTL 反应

机体有效清除体内 HBV 并建立长期免疫保护机制主要

依赖于 HBV 特异性 CTL^[16]。随着对自噬过程的深入研究,我们注意到自噬也广泛参与 HBV 识别和消除,并对免疫系统具有重要意义。静息 T 细胞具有基本的自噬水平,刺激 T 细胞受体(TCR)可上调自噬水平^[17]。Schlie 等^[18]发现,自噬通过降解细胞凋亡相关蛋白来促进 CD8⁺T 细胞存活,然而自噬缺陷却使 TCR 刺激后的 CD8⁺T 细胞在存活和增殖方面存在明显缺陷。Paul 等^[19]进一步揭示了自噬调节 T 细胞活化的分子机制:衔接蛋白 Bcl-10 是 NF- κ B 信号转导的重要介质,TCR 信号转导促进 Bcl-10 在 K63 位的多聚泛素化,泛素化 Bcl-10 与接头蛋白 P62 结合,自此进入自噬途径发生降解,并且抑制自噬活性后能增强 TCR 信号对 NF- κ B 通路的激活。

2. 自噬增强 DC 抗原提呈作用

最近的一项研究为阐明自噬调节免疫应答提供了新的见解。Ma 等^[20-21]发现负载 HBcAg 的新型慢病毒载体(LVDC-Ub-HBcAg-LIGHT)可特异性上调 DC 活性,增强 DC 抗原提呈作用,并通过上调 T 细胞自噬而引发强烈的 HBV 特异性 CTL 反应;他们还发现,负载新型慢病毒载体的 DC 之所以能够诱导 T 细胞发生强烈的免疫应答,主要是因为自噬通过选择性降解周期和凋亡相关蛋白,抑制 T 细胞凋亡,促进 T 细胞大量增殖活化成为具有杀伤效应的 CTLs。这一研究强烈突出了自噬在 CTL 增殖活化的关键作用。

3. 自噬与 HBV 相关疾病的研究进展

值得注意的是,随着 HBV 感染逐渐慢性化、严重化,自噬对肝脏疾病的进展也越发重要。自噬可影响促炎因子的产生,促进 HBV 引起的炎症反应,而抑制自噬能消除 HBx 诱导的 NF- κ B 激活和 IL-6、IL-8、CXCL2 的产生,从而减轻炎症^[22]。此外,自噬还能影响 IL-1 β 、IL-18 和高迁移率族 1 蛋白(HMGB1)水平^[23]。在慢性乙型肝炎肝功能衰竭患者的血清中发现 IL-1 β 和 HMGB1 明显上调,而急性肝炎患者的外周血单核细胞中 IL-18 表达增加^[24]。

胞质中的 HMGB1 被认为是自噬的正调节剂,HBx 上调 HMGB1 的表达并通过乙酰化促进其胞质易位,从而促进自噬过程。HBx 诱导的自噬依赖于 HMGB1,自噬和 HMGB1 之间的作用也可能涉及 HBV 感染疾病的演变进程^[25]。随即有学者报道 DEAD box 蛋白 5(DDX5)表达失调、自噬受损与 HCC 发生有关,DDX5 可以促进自噬并能抑制肿瘤发生。miR-17-5p 能下调 DDX5 并损害自噬过程,在 HCC 异种移植模型中,抑制 miR-17-5p 会促进自噬通量并抑制肿瘤生长^[26]。

四、结语与展望

关于自噬在 HBV 感染中的作用现已引起了越来越多的关注。尽管目前还未能完全阐明自噬影响 HBV 感染和疾病进展的明确机制,但已有的研究成果表明了自噬在抗 HBV

感染中具有积极作用,这使我们对自噬作为治疗 HBV 的新靶点有了更多的信心和期待。自噬相关药物和抗病毒药物的联合使用很可能成为临床治疗的新疗法。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] He Q, Song X, Huang Y, et al. Dexamethasone stimulates hepatitis B virus (HBV) replication through autophagy[J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24:4617–4624. DOI: 10.12659/MSM.906250.
- [2] Zhong L, Shu W, Dai W, et al. Reactive oxygen species-mediated c-Jun NH2-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):e00001–17. DOI: 10.1128/JVI.00001–17.
- [3] Yu L, Chen Y, Tooze SA. Autophagy pathway: Cellular and molecular mechanisms[J]. *Autophagy*, 2018, 14(2):207–215. DOI: 10.1080/15548627.2017.1378838.
- [4] Döring T, Zeyen L, Bartusch C, et al. Hepatitis B virus subverts the autophagy elongation complex Atg5–12/16L1 and does not require Atg8/LC3 lipidation for viral maturation[J]. *J Virol*, 2018, 92(7):e01513–17. DOI: 10.1128/JVI.01513–17.
- [5] Ueno T, Komatsu M. Autophagy in the liver: functions in health and disease[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017, 14(3):170–184. DOI: 10.1038/nrgastro.2016.185.
- [6] Xiang K, Wang B. Role of the PI3K-AKT-mTOR pathway in hepatitis B virus infection and replication [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(3):4713–4719. DOI: 10.3892/mmr.2018.8395.
- [7] Lin Y, Deng W, Pang J, et al. The microRNA-99 family modulates hepatitis B virus replication by promoting IGF-1R/PI3K/Akt/mTOR/ULK1 signaling-induced autophagy[J]. *Cell Microbiol*, 2017, 19(5). DOI: 10.1111/cmi.12709.
- [8] Jia W, He MX, McLeod IX, et al. Autophagy regulates T lymphocyte proliferation through selective degradation of the cell-cycle inhibitor CDKN1B/p27Kip1[J]. *Autophagy*, 2015, 11(12):2335–2345. DOI: 10.1080/15548627.2015.1110666.
- [9] Kim J, Kim YC, Fang C, et al. Differential regulation of distinct Vps34 complexes by AMPK in nutrient stress and autophagy[J]. *Cell*, 2013, 152(1–2):290–303. DOI: 10.1016/j.cell.2012.12.016.
- [10] Rabanal-Ruiz Y, Otten EG, Korolchuk VI. mTORC1 as the main gateway to autophagy[J]. *Essays Biochem*, 2017, 61(6):565–584. DOI: 10.1042/EBC20170027.
- [11] Wang X, Lin Y, Kemper T, et al. AMPK and Akt/mTOR signalling pathways participate in glucose-mediated regulation of hepatitis B virus replication and cellular autophagy[J]. *Cell Microbiol*, 2020, 22(2):e13131. DOI: 10.1111/cmi.13131.
- [12] Lin Y, Wu C, Wang X, et al. Glucosamine promotes hepatitis B virus replication through its dual effects in suppressing autophagic degradation and inhibiting mTORC1 signaling[J]. *Autophagy*, 2020, 16(3):548–561. DOI: 10.1080/15548627.2019.1632104.
- [13] Chen X, Hu Y, Zhang W, et al. Cisplatin induces autophagy to enhance hepatitis B virus replication via activation of ROS/JNK and inhibition of the Akt/mTOR pathway[J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 131:225–236. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.12.008.
- [14] 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.
- [15] Fu L, Fu X, Mo J, et al. miR-146a-5p enhances hepatitis B virus replication through autophagy to promote aggravation of chronic hepatitis B[J]. *IUBMB Life*, 2019, 71(9):1336–1346. DOI: 10.1002/iub.2044.
- [16] Shao BZ, Han BZ, Zeng YX, et al. The roles of macrophage autophagy in atherosclerosis[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2016, 37(2):150–156. DOI: 10.1038/aps.2015.87.
- [17] Dowling SD, Macian F. Autophagy and T cell metabolism[J]. *Cancer Lett*, 2018, 419:20–26. DOI: 10.1016/j.canlet.2018.01.033.
- [18] Schlie K, Westerback A, DeVorkin L, et al. Survival of effector CD8+T cells during influenza infection is dependent on autophagy [J]. *J Immunol*, 2015, 194(9):4277–4286. DOI: 10.4049/jimmunol.1402571.
- [19] Paul S, Traver MK, Kashyap AK, et al. T cell receptor signals to NF-κB are transmitted by a cytosolic p62-Bcl10-Malt1-IKK signalosome[J]. *Sci Signal*, 2014, 7(325):ra45. DOI: 10.1126/scisignal.2004882.
- [20] Ma S, Chen X, Tan Q, et al. An engineered novel lentivector specifically transducing dendritic cells and eliciting robust HBV-specific CTL response by upregulating autophagy in T cells[J]. *Cell Cycle*, 2018, 17(10):1220–1234. DOI: 10.1080/15384101.2018.1471312.
- [21] Ma S, Chen X, Tan Q, et al. An engineered DC-targeting lentivector induces robust T cell responses and inhibits HBV replication in HBV transgenic mice via upregulating T cell autophagy[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 48(3):1041–1059. DOI: 10.1159/000491972.
- [22] Luo MX, Wong SH, Chan MT, et al. Autophagy mediates HBx-induced nuclear factor-κB activation and release of IL-6, IL-8, and CXCL2 in hepatocytes[J]. *J Cell Physiol*, 2015, 230(10):2382–2389. DOI: 10.1002/jcp.24967.
- [23] Wang K, Wu ZB, Ye YN, et al. Plasma interleukin-10: A likely predictive marker for hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure[J]. *Hepat Mon*, 2014, 14(7):e19370. DOI: 10.5812/hepatmon.19370.
- [24] Wu DL, Xu GH, Lu SM, et al. Correlation of AIM2 expression in peripheral blood mononuclear cells from humans with acute and chronic hepatitis B[J]. *Hum Immunol*, 2013, 74(5):514–521. DOI: 10.1016/j.humimm.2013.01.022.
- [25] Fu S, Wang J, Hu X, et al. Crosstalk between hepatitis B virus X and high-mobility group box 1 facilitates autophagy in hepatocytes [J]. *Mol Oncol*, 2018, 12(3):322–338. DOI: 10.1002/1878–0261.12165.
- [26] Zhang H, Zhang Y, Zhu X, et al. DEAD box protein 5 inhibits liver tumorigenesis by stimulating autophagy via interaction with p62/SQSTM1[J]. *Hepatology*, 2019, 69(3):1046–1063. DOI: 10.1002/hep.30300.

(收稿日期:2019–12–09)