

# 肝代谢调控下抗 HBV 感染的新策略:营养疗法

孙维华,胡康洪\*,田小辉,寇铮,孙鹤 (湖北工业大学轻工学部中德生物医学中心,湖北武汉 030240)

**摘要** 乙型肝炎病毒(Hepatitis B virus, HBV)是一种嗜肝性 DNA 病毒,慢性 HBV 感染会引起严重肝脏病变(如慢性肝炎、肝硬化和肝癌)。大量研究表明 HBV 能够响应肝代谢变化,病毒基因调控与肝代谢基因调控存在密切关联。虽然相关研究仍处于探索阶段,但是在感染过程中病原与宿主代谢基因调控及肝代谢状态间的关联机制可能成为一种极具潜力的临床治疗策略。介绍了 HBV 感染与宿主代谢方面间的联系,指出适时进行营养疗法有望成为一种抗 HBV 感染的有效策略。

**关键词** 乙型肝炎病毒(HBV);基因调控;营养疗法

**中图分类号** S852.65 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)02-

人类乙型肝炎病毒(Hepatitis B virus, HBV)是嗜肝 DNA 病毒科的代表类型,其基因组是含有部分单链的双链 DNA,为通过逆转录进行复制的小 DNA 病毒<sup>[1-3]</sup>。该基因编码 4 个重叠或者部分重叠的开放阅读框(Open reading frame, ORF),分别为 P 区、S 区、C 区和 X 区<sup>[4]</sup>。通过基因组序列对比,HBV 可分为 8 个基因型,从 A 到 H 型,每个基因型的分布存在地域性差异<sup>[4]</sup>。通过电镜检测病毒性乙型肝炎病人的血清,发现病人的血清中存在 3 种形态的病毒颗粒,分别为直径 42 nm 完整的具有感染性的 Dane 颗粒,直径 22 nm 无核酸和感染性的脂蛋白球型和管型颗粒<sup>[5]</sup>。学术界一致认为 HBV 的嗜肝性是通过肝细胞膜上的特异性受体及肝细胞内环境来维持的。最新发现 HBV 受体为牛磺胆酸钠共转运多肽(Sodium taurocholate cotransporting polypeptide, NT-CP)<sup>[6]</sup>,相关靶点药物从设计到临床尚需相当长的过激时间。

HBV 基因组内有 2 个增强子,其中增强子 1(Enh I)位于 1 043~1 235 nt;增强子 2(Enh II)位于 1 570~1 771 nt,与 HBV X 基因重叠,位于 C 基因上游<sup>[7]</sup>。在 Enh I 上存在 Nuclear factor 1(NF1)、CAAT enhancer-binding protein(C/EBP)、Hepatocyte nuclear factor 1、3、4(HNF1、HNF3 和 HNF4)、Activator protein 1(API)、cAMP-response element binding protein(CREB)等转录因子或 DNA 结合蛋白的结合位点,Enh I 可增强 HBV 基因的 SpI、SpII、Xp、Cp(S、C、X 基因启动子)转录活性。Enh I 对 Cp 的作用通过 Enh II 实现。在 Enh II 上存在 HNF1、HNF3、HNF4、nuclear respiratory factor 1(NRF1)等转录因子结合位点。HBV Enh I、Enh II 均有转录的肝细胞特异性,即仅在肝细胞内才能转录。这是由与 HBV 增强子相互作用的肝特异性核因子 1、3、4(HNF1、HNF3、HNF4)所决定的<sup>[7-8]</sup>。

## 1 HBV 持续感染与肝代谢调控基因的关系

作为一种仅 3.2 kb 的小 DNA 病毒,HBV 通过招募细胞的转录因子到其基因组上进行转录水平的调节<sup>[7]</sup>,有些转录因子是肝富集的核受体,它们广泛参与肝细胞基因的调控;

有些转录因子对于维持肝脏行使机体的主要代谢功能是必不可少的<sup>[9]</sup>。已经证明肝细胞核因子 4 $\alpha$  hepatocyte nuclear factor 4 $\alpha$ (HNF4 $\alpha$ )对 HBV 基因表达作用至关重要,同时它也是肝脏糖代谢中基因表达的重要调节子<sup>[10]</sup>。目前,已经证实代谢调节子过氧化物酶体增殖活化受体  $\gamma$  共激活因子 1 $\alpha$ (Peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  coactivator 1 $\alpha$ , PGC1 $\alpha$ )通过 HNF4 $\alpha$  共激活糖异生基因,同时也能共激活 HBV。禁食条件能够促进环磷酸腺苷反应元件结合蛋白辅组激活因子 2(cAMP-regulated transcriptional co-activator 2, CRCT2)入核,上调 PGC1 $\alpha$  的表达,从而明显上调 HBV 基因的表达,表明禁食能够引起 HBV 复制的上调,且上调 HBV 基因的表达依赖于 PGC1 $\alpha$  的表达。前期研究中已详细阐述了 CRCT2 在 PGC1 $\alpha$  介导下能够上调 HBV 转录和复制<sup>[11-12]</sup>。另外,补食能够抑制 HBV 复制的反弹<sup>[13]</sup>。

一般认为,HBV 采用了一套与肝脏中主要的代谢基因如磷酸烯醇型丙酮酸羧激酶(Phosphoenolpyruvate carboxylase, PEPCK)和葡萄糖-6-磷酸酶(Glucose-6-phosphatase, G6Pase)相似的调节方式,这些代谢基因通过激素信号进行调节来维持营养平衡。依赖这种方式,病毒基因表达的调控与肝代谢途径发生联系,为了响应外界营养信号如饥饿/禁食,病毒基因的表达自然而然地受到波动。通过模拟肝脏代谢基因,病毒能够在宿主肝脏内选择性表达和复制,以应对宿主免疫反应,使宿主对它的清除程度减至最低。目前,与 HBV 感染相关的现象还有许多是未知的,营养与病毒间的相关性可能为此提供新的机制,提示营养疗法可能成为抗 HBV 的新方向。

## 2 HBV 增殖与肝代谢环境间的关系

作为机体重要的代谢器官,肝脏持续地受到动态环境因素(如营养信号)的影响,这些信号不停地波动并通过激素(如胰岛素)、胰高血糖素、糖(肾上腺)皮质激素等)传递到肝细胞中,控制重要的代谢过程(如糖脂的合成和利用)。营养信号不仅是这些代谢过程的主要调节子,而且也可能在某些极端条件下决定细胞的命运。在日常生活中,一方面短期禁食会完全激活肝细胞代谢,启动糖异生过程;另一方面,长期挨饿会耗尽储备的能量,不仅会中断糖异生过程,而且会抑制细胞增殖的代谢调控点<sup>[14]</sup>。

作为长期寄生物,HBV 必须与宿主细胞达成平衡,适时

**基金项目** 湖北工业大学高层次人才启动基金(337.193);国家自然科学基金面上项目(30870131)。

**作者简介** 孙维华(1990-),男,湖北武汉人,硕士研究生,研究方向:以 HBV 复制机理为基础的医学研究。\*通讯作者。

**收稿日期** 2014-11-13

地、适当地调节基因的表达,抑制宿主细胞内免疫调节机制的激活<sup>[15]</sup>。据此测,通过模拟调控代谢基因的表达,HBV 以某种最佳方式达到这种状态。病毒通过转录调控元件,这些元件与肝脏中关键代谢基因的调控元件相似,病毒基因表达与维持肝细胞代谢基因表达发生联系,减少关键转录因子的利用率,降低宿主细胞调节的可能性<sup>[16]</sup>。另外,这种状态保证了它及时有条不紊地应对某些变化,而这些变化可能极大地干扰病毒复制,影响细胞代谢状态。短暂饥饿会消耗胞内糖原的贮存,但细胞仍有足够的 ATP 产生可利用的葡萄糖,细胞高效募集大量的原料(如氨基酸、游离脂肪酸等)进行糖异生,同时会完全激活糖异生关键基因 PEPCK 和 G6Pase。在 HBV 基因表达与糖异生基因 PEPCK 和 G6Pase 的表达发生联系后,HBV 能够在胞内短时间富集其增殖所需的重要原料,但不至于严重影响宿主细胞。因此,短暂或过夜禁食引发的肝脏糖异生,会提高 HBV 基因表达和复制<sup>[16]</sup>。一方面,在即将凋亡的宿主细胞中,HBV 可以产生足够的具有感染性的后代,而且该时间段是 HBV 强力复制的合适时间;另一方面,延长饥饿时间,细胞能量储存基本耗尽,其中储存能量可由 AMP/ATP 比值上升和完全终止的糖异生来反映,在此极端条件下 HBV 基因的表达量会大幅度地减弱<sup>[17]</sup>。因此,当病毒基因表达与暂时处于非激活状态的糖异生基因发生联系,病毒就可以避免对宿主细胞造成的额外的裂解负担,除非其目的是导致宿主细胞快速死亡,否则病毒此时不会大幅度增殖。显然,作为一种严格依赖宿主细胞完成其增殖的小 DNA 病毒,HBV 因其独特优势而在长期进化中生存下来。

根据病毒代谢模型和最新研究成果,HBV 基因的表达与关键代谢基因(如 PEPCK 和 G6Pase)的表达具有联系。因此,一天的不同时刻 HBV 基因表达是处于不断波动的,这与宿主营养状态相关。某些环境因素能严重干扰病毒的存活,免疫系统就是因素之一,在 HBV 感染的致病机理方面起重要作用,这些波动在某种程度上却有利于病毒。大量的不同种类的 HBV 抗原能够引起有效的抗 HBV 免疫反应,这些抗原的波动性表达可能迷惑免疫系统,导致无效的免疫反应,从而显著降低清除病毒的可能性。这种策略协助病毒采取其他已知免疫逃脱策略,如分泌 HBV e 抗原<sup>[18]</sup>。C. Liu 认为调节肝细胞关键代谢基因昼夜周期表达的机制也可能调节 HBV 基因的表达<sup>[19]</sup>。A. M. Collaco 研究代谢辅因子 PGC1 $\alpha$  能以昼夜生物钟的方式强烈地共激活 HBV 转录<sup>[20]</sup>,从而证实了上述推论。因此,参与细胞周期和复制机理的关键基因具有波动性表达,作为一类严格依赖宿主完成其复制的小分子 DNA 病毒,由此可见 HBV 正是与这种波动性的表达建立联系,并从中获益以完成自身的复制。近期研究也暗示了这种观点,某些 DNA 病毒(如巨细胞病毒(CMV))能够依赖宿主生物钟系统调节病毒自身基因的表达<sup>[18]</sup>。由于 HBV 基因的表达与肝代谢网络发生联系,今后研究将着重揭示 HBV 感染水平是否依赖于宿主细胞的生物钟系统。

### 3 HBV 感染差异与营养习惯间的关系

HBV 与调控代谢基因的营养信号间存在的依赖性有助

于解释某些 HBV 流行病学和自然感染过程中未知的相关问题。该领域的重要进展就是发现全球不同区域 HBV 自然感染历程存在显著差异。我国 HBV 感染个体的肝癌发病率比非洲西部同类群体病人的发病率高得多<sup>[21]</sup>。经过数年慢性感染后,通过测量病毒复制的相关数据表明中国显著地存在更高的病毒复制活性。全球各地 HBV 的侵染程度不同,其并发症发生的概率也不相同。目前,还不能对不同的 HBV 血清型和基因型与其复制活性间的影响做出彻底解释,猜想不同地区的环境因素(如营养习惯)对 HBV 活性及其引起的并发症具有重要影响。区域营养习惯不同,营养条件差异也就很大,在研究病毒的生物复制活性与当地饮食条件间的相关性时 HBV 的生活周期代谢模型应成为首要考虑的线索<sup>[17]</sup>。

根据已提出的病毒代谢模型,认为 HBV 感染的病人营养状况可能显著影响 HBV 感染的临床治疗进程。在照顾病人方面,作为机体有力抵抗疾病的重要防御系统,应该考虑合理的膳食这个基本因素,对于维持正常功能具有重要作用。在禁食情况下,由于低血糖可能导致糖异生,进而激活 HBV 基因的表达和复制,HBV 感染患者应该完全避免短期禁食状况。因此,避免低血糖可能成为抗 HBV 治疗的关键策略。

在恶性环境和免疫抑制的条件下,普遍存在 HBV 复制的激活<sup>[22]</sup>。这些条件会导致营养不良,而营养不良又可能进一步加强 HBV 的复制。因此,营养不良造成的恶性循环可能是导致 HBV 感染和附带疾病恶性加剧的另一关键因素。

值得注意的是,建议医生在评估 HBV 病毒载量时考虑测试的具体时间。由于 HBV 基因的表达和复制依赖于当时的营养状况,一天不同时刻的基因表达会存在差异,在晚间时刻糖原储存足够而中断糖异生;在早晨,糖原消耗会完全激活糖异生。因此,早晚不同时间病毒的载量就可能存在显著差异。

### 4 抗 HBV 感染的潜在新策略——营养疗法

HBV 感染是世界性的公共健康问题,慢性感染会导致肝纤维化、肝硬化和肝癌<sup>[23]</sup>。目前,对于慢性乙型肝炎的治疗主要是通过注射干扰素或服用核苷类似物。干扰素主要是通过免疫调节来发挥抗病毒作用<sup>[24]</sup>,但是应答率低,并且伴有严重的副反应<sup>[25]</sup>。Teijaro 和 Wilson 等研究发现 IFN $\alpha/\beta$  在抗病毒作用的同时还抑制了机体的免疫系统<sup>[26-27]</sup>。长期服用核苷类似物后易出现耐药株以及停药后反弹<sup>[28-29]</sup>。另外,临床上慢性乙肝患者长期抗病毒治疗给患者带来巨大的经济压力,同时也降低患者的依从性<sup>[30]</sup>。迄今为止,这些治疗效果并不令人满意<sup>[31-33]</sup>。因此,像体外筛选阻止病毒聚合酶 P 与包装信号 epsilon RNA 相互作用的核酸适配子一样<sup>[32,34]</sup>,在寻找新颖的治疗策略过程中营养疗法也有望成为抗病毒治疗的新选择。近年来,人们发现 HBV 持续感染与肝代谢网络及环境之间存在一定的依赖性,而 HBV 感染差异又与营养状况相关,提示合理膳食可能对于 HBV 慢性感

染患者而言是可以作为传统抗病毒药物如干扰素和反转录酶抑制剂的一种有效辅助治疗手段。

## 参考文献

- [1] 王薇薇,胡康洪. RNA 药物抗乙型肝炎病毒的研究进展[J]. 武汉大学学报,2010,56(1):63-68.
- [2] BECK J,NASSAL M. Hepatitis B virus replication[J]. World J Gastroenterol,2007,13(1):48-64.
- [3] NASSAL M. Hepatitis B viruses:reverse transcription a different way[J]. Virus Res,2008,134(1/2):235-249.
- [4] SCHAEFER S. Hepatitis B virus taxonomy and hepatitis B virus genotypes[J]. World J Gastroenterol,2007,13(1):14-21.
- [5] GLEBE D,URBAN S. Viral and cellular determinants involved in hepadnaviral entry[J]. World J Gastroenterol,2007,13(1):22-38.
- [6] YAN H,ZHONG G,XU G,et al. Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is a functional receptor for human hepatitis B and D virus[J]. Elife,2012,1:49.
- [7] QUASDORFF M,PROTZER U. Control of hepatitis B virus at the level of transcription[J]. J Viral Hepat,2010,17(8):527-536.
- [8] 周伯平,崇雨田. 病毒性肝炎[M]. 北京:人民卫生出版社,2011:336-343.
- [9] CURTIL C,ENACHE L S,RADREAU P,et al. The metabolic sensors FXRalpha,PGC-1alpha,and SIRT1 cooperatively regulate hepatitis B virus transcription[J]. FASEB J,2014,28(3):1454-1463.
- [10] PARK E Y,LEE C H,LEE E K,et al. HNF4alpha contributes to glucose formation in aged rat hepatocytes[J]. Exp Gerontol,2013,48(12):1518-1525.
- [11] TIAN X,ZHAO F,SUN W,et al. CRT2 enhances HBV transcription and replication by inducing PGC1alpha expression[J]. Virol J,2014,11:30.
- [12] TIAN X,ZHAO F,CHENG Z,et al. GCN5 acetyltransferase inhibits PGC1alpha-induced hepatitis B virus biosynthesis[J]. Virol Sin,2013,28(4):216-222.
- [13] SHLOMAI A,PARAN N,SHAUL Y. PGC-1alpha controls hepatitis B virus through nutritional signals[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2006,103(43):16003-16008.
- [14] JONES R G,PLAS D R,KUBEK S,et al. AMP-activated protein kinase induces a p53-dependent metabolic checkpoint[J]. Mol Cell,2005,18(3):283-293.
- [15] CHANG J J,LEWIN S R. Immunopathogenesis of hepatitis B virus infection[J]. Immunol Cell Biol,2007,85(1):16-23.
- [16] BAR-YISHAY I,SHAUL Y,SHLOMAI A. Hepatocyte metabolic signaling pathways and regulation of hepatitis B virus expression[J]. Liver Int,2011,31(3):282-290.
- [17] SHLOMAI A,SHAUL Y. The "metabovirus" model of hepatitis B virus suggests nutritional therapy as an effective anti-viral weapon[J]. Med Hypotheses,2008,71(1):53-57.
- [18] SHADAN F F. A circadian model for viral persistence[J]. Med Hypotheses,2007,68(3):546-553.
- [19] LIU C,LI S,LIU T,et al. Transcriptional coactivator PGC-1alpha integrates the mammalian clock and energy metabolism[J]. Nature,2007,447(7143):477-481.
- [20] COLLACO A M,RAHMAN S,DOUGHERTY E J,et al. Circadian regulation of a viral gene promoter in live transgenic mice expressing firefly luciferase[J]. Mol Imaging Biol,2005,7(5):342-350.
- [21] MAJOR J M,SARGENT J D,GRAUBARD B I,et al. Local geographic variation in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma:contributions of socioeconomic deprivation,alcohol retail outlets,and lifestyle[J]. Ann Epidemiol,2014,24(2):104-110.
- [22] COIFFIER B. Hepatitis B virus reactivation in patients receiving chemotherapy for cancer treatment:role of Lamivudine prophylaxis[J]. Cancer Invest,2006,24(5):548-552.
- [23] 胡康洪. 乙型肝炎病毒:复制机制与基因封闭策略[J]. 中外健康文摘,临床医师,2008,5(8):5-7.
- [24] GEORGE P M,BADIGER R,ALAZAWI W,et al. Pharmacology and therapeutic potential of interferons[J]. Pharmacol Ther,2012,135(1):44-53.
- [25] ODORIZZI P M,WHERRY E J. Immunology. An interferon paradox[J]. Science,2013,340(6129):155-156.
- [26] WILSON E B,YAMADA D H,ELSAESSER H,et al. Blockade of chronic type I interferon signaling to control persistent LCMV infection[J]. Science,2013,340(6129):202-207.
- [27] TEIJARO J R,NG C,LEE A M,et al. Persistent LCMV infection is controlled by blockade of type I interferon signaling[J]. Science,2013,340(6129):207-211.
- [28] FENG H,HU K. Structural Characteristics and Molecular Mechanism of Hepatitis B Virus Reverse Transcriptase[J]. Virologica Sinica,2009,24(6):509-517.
- [29] YING C,LI Y,LEUNG C H,et al. Unique antiviral mechanism discovered in anti-hepatitis B virus research with a natural product analogue[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2007,104(20):8526-8531.
- [30] TUJIOS S R,LEE W M. Update in the management of chronic hepatitis B[J]. Curr Opin Gastroenterol,2013,29(3):250-256.
- [31] KWON H,LOK A S. Hepatitis B therapy[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol,2011,8(5):275-284.
- [32] FENG H,CHEN P,ZHAO F,et al. Evidence for Multiple Distinct Interactions between Hepatitis B Virus P Protein and Its Cognate RNA Encapsulation Signal during Initiation of Reverse Transcription[J]. PLoS One,2013,8(8):72798.
- [33] FENG H,HU K. Aptamers against viral hepatitis from rational design to practical application[J]. Virologica Sinica,2008,23(5):315-320.
- [34] FENG H,BECK J,NASSAL M,et al. A SELEX-Screened aptamer of human hepatitis B virus RNA encapsidation signal suppresses viral replication[J]. PLoS One,2011,6(11):27862.