

· 综述 ·

DOI: 10.12449/JCH240425

乙型肝炎相关肝内胆管癌的发病机制

田奇玉¹, 余建², 黄罡²

1 海军军医大学研究生院, 上海 200433

2 海军军医大学附属东方肝胆外科医院普外科, 上海 200438

通信作者: 黄罡, squaror@163.com (ORCID: 0009-0000-4574-4079)

摘要: 肝内胆管癌(ICC)是原发性肝癌的一种类型, 占总病例的10%~15%, 发病率和死亡率在全球范围内呈显著上升趋势, 尤其是在亚洲国家。目前, 根治性切除术是唯一可能治愈ICC的方式, 然而术后复发率高, 预后较肝细胞癌差。因此, 急需进一步研究ICC的发生和发展机制, 寻找更有效的治疗手段。一些流行病学数据显示, 慢性HBV感染是ICC发生的最主要易感因素之一, 然而人们对相关致癌作用知之甚少。本综述总结了二者之间的流行病学证据, 简要概述了HBV相关ICC发生发展的机制, 以期能有助于更好地了解HBV在ICC发生和发展中的作用。

关键词: 胆管上皮癌; 乙型肝炎病毒; 致癌作用

基金项目: 国家自然科学基金(82002458)

Pathogenesis of hepatitis B-associated intrahepatic cholangiocarcinoma

TIAN Qiyu¹, YU Jian², HUANG Gang². (1. Graduate School of Navy Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Department of General Surgery, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Navy Medical University, Shanghai 200438, China)

Corresponding author: HUANG Gang, squaror@163.com (ORCID: 0009-0000-4574-4079)

Abstract: Intrahepatic cholangiocarcinoma (ICC) is a type of primary liver cancer that accounts for about 10%—15% of the total cases, and its incidence and mortality rates tend to increase significantly around the world, especially in Asian countries. At present, radical liver resection is the only possible cure for ICC, but with a fairly high postoperative recurrence rate and a poorer prognosis than hepatocellular carcinoma. Therefore, it is urgently needed to further investigate the mechanisms of the development and progression of ICC and search for more effective treatment methods. Some epidemiological data suggest that chronic hepatitis B virus infection is one of the most important predisposing factors for ICC, yet little is known about its oncogenic effects. This article summarizes the epidemiological evidence that links the two diseases and briefly elaborates on the mechanisms of the development and progression of HBV-associated ICC, so as to help to gain a better understanding of the role of HBV in the development and progression of ICC.

Key words: Cholangiocarcinoma; Hepatitis B virus; Carcinogenesis

Research funding: National Natural Science Foundation of China (82002458)

原发性肝癌包括肝细胞癌(HCC)(75%~85%)和肝内胆管癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)(10%~15%), 以及其他罕见类型。ICC起源于肝内胆管上皮, 是极具侵袭性的恶性肿瘤, 仅20%~30%的ICC患者能进行根治性手术, 但术后容易复发和转移, 术后5年生存率仅为20%~30%。近40年来, ICC的发病率上升了

140%^[1]。同时, 在全球范围内, ICC的死亡率正在上升^[2], 可能与危险因素的趋势有关, 也可能由疾病分类方法更新所致。

研究^[3]显示, 慢性HBV感染与ICC进展的风险增加密切相关, 并在ICC中起病因学作用。随着研究进展, 现已明确HBV-ICC是一个多基因、多步骤相互作用的复

杂过程。本文就HBV-ICC发生的主要机制,以及该领域的最新研究进展进行综述。

1 HBV相关ICC的流行病学依据

根据目前最新的一项全球分析^[4],预计至2040年,将有140万肝癌新诊断病例,较2020年增加55.0%。同时,到2040年将有130万人死于肝癌。最近有研究者通过比较亚洲和西方胆管癌患者的基因组,发现亚洲患者的肿瘤突变负荷(tumor mutation burden, TMB)较高。并且,与HBsAg阴性患者相比,HBsAg阳性患者中TP53突变的发生率较高,而KRAS及IDH1/2突变的发生率较低。这提示HBV感染可能与ICC突变谱的差异有关。一般而言,TMB较高的患者可能对免疫治疗和靶向治疗更加敏感^[5]。相信随着HBV-ICC相关机制的研究,将来可为HBV-ICC的防治提供更优的方法及思路。

2 HBV导致ICC发生的机制

最近一项研究^[6]发现HBV-ICC可能起源于肝细胞,HBV可能通过直接或间接机制导致肝细胞癌变。一方面,HBV可引起宿主DNA的表观遗传重塑,导致染色体畸变。通过整合或诱导宿主基因突变,使癌基因、抑癌基因异常表达。还可通过激活与癌症相关的信号通路,调节细胞代谢等机制引起肝细胞的恶性转化;另一方面,肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)可通过HBV感染诱导的慢性炎症,形成免疫抑制性微环境,帮助病毒免疫逃逸,促进炎症进展到肿瘤。

2.1 直接致癌作用

2.1.1 HBV x蛋白(hepatitis B virus x protein, HBx) HBx已被证实是一种具有反式激活作用的多功能蛋白,可参与多种基因调控和信号通路,可诱导肝细胞自噬,调节病毒复制及许多细胞功能,包括细胞增殖、分裂、转化、凋亡、耐药和DNA修复以及诱导氧化应激和脂质过氧化,最终参与多种肝脏疾病的发生发展。

HBx对于HBV的感染及持续复制至关重要,作为一种表观遗传因子,即使在被感染的肝细胞内丰度较低,HBx蛋白也能通过直接与核转录因子相互作用或激活细胞质中相关信号途径激活宿主基因转录^[7],提高HBV复制效率。在感染HBV后,HBV粒子DNA,即松弛环状DNA转变为共价闭合环状DNA(covalently closed circular DNA, cccDNA),cccDNA是所有HBV mRNA的转录模板。HBV cccDNA的功能受病毒染色质表观遗传变化调控。HBx能被直接募集到cccDNA,也能通过调节染色

质修饰酶在病毒微染色体上的募集,参与后者的形成及协助其对HBV转录的表观遗传调控。在体内体外,HBV复制均受cccDNA结合的H3/H4组蛋白乙酰化水平调节,慢性乙型肝炎(CHB)患者HBV病毒血症水平与其肝内cccDNA结合H3/H4组蛋白乙酰化的水平相关。HBx蛋白能通过抑制去乙酰化酶3及高迁移率族蛋白B1的表达,能抑制参与转录和染色质调控的细胞因子(如PP1/HDAC1复合体和PRMT1),还能增强DLEU2转录,来维持cccDNA的活性状态。相反,在HBx缺陷或突变的情况下,组蛋白乙酰化转移酶p300对cccDNA结合组蛋白的超乙酰化功能严重受损,而去乙酰化酶HDAC1和SIRT1被募集到cccDNA中,导致cccDNA转录和病毒复制受到抑制^[8]。此外,在HBx缺陷型HBV,即HBV(x⁻)细胞模型中发现,组蛋白甲基转移酶SETDB1介导的转录抑制标志物(H3K9me2和H3K9me3)的沉积可以导致HBV基因组的沉默,而HBx在病毒微染色体的募集可抵消部分上述转录抑制作用,也就是说,HBx能正调控cccDNA,进而重新启动HBV转录^[8]。染色体结构维持蛋白5/6复合物(Smc5/6)是抑制cccDNA转录的宿主限制因子,能抑制HBV复制,HBx能劫持细胞中含有DNA损伤结合蛋白1(DDB1)的E3泛素连接酶^[7],HBx-DDB1 E3连接酶相互作用,导致Smc5/6复合物降解,激活cccDNA转录,使得HBV基因表达^[8-9]。另外,HBx通过钙信号通路增强病毒聚合酶活性,促进HBV pgRNA(pregenome RNA)的包装,调节细胞周期进程,刺激HBV复制^[10],最近一项研究^[11]发现,pgRNA水平有助于预测CHB患者的自发HBeAg血清学转换。

HBx蛋白与HBV的致癌性密切相关^[12]。一项研究^[13]发现HBx在ICC组织中显著表达,尤其是外周型ICC,即小胆管型ICC。HBx表达与ICC的分化程度和血清AFP水平有关,这提示HBx可能参与ICC的发展。HBx在ICC中的表达可能通过以下机制来影响细胞增殖和转移:(1)HBx通过蛋白质-蛋白质相互作用,作用于许多细胞和病毒启动子。HBx可激活或抑制多种信号通路,这些信号通路涉及基因组不稳定、DNA损伤、细胞周期、细胞增殖与凋亡、炎症、免疫反应、代谢、血管生成和转移等。(2)HBx可以结合并灭活TP53,诱导染色体不稳定。(3)HBx通过与不同细胞蛋白(Crm1、HBXIP、DDB1、p53、hBubR1、TAX1BP2)结合从而导致染色体不稳定。(4)HBx通过激活Ras-MEK-MAPK诱导中心体过度扩增和有丝分裂畸变。HBx与P53结合,破坏P53介导的细胞凋亡和检查点功能。(5)HBx通过与CBP/p300乙酰转移

酶相互作用,并通过PP1磷酸酶阻止CREB失活,诱导CREB依赖性转录激活,导致CREB应答基因表达参与肝细胞代谢和增殖^[14]。目前,HBx对于细胞凋亡的作用存在争议:在小鼠模型中,HBx使小鼠肝细胞对TNF- α 诱导的细胞凋亡敏感^[15]。一些体外实验^[16]表明,HBx能阻断TNF- α 、Fas、P53或TGF β 介导的细胞凋亡。也有研究^[17]表明HBx能促进培养细胞凋亡。另一方面,HBx能提高细胞活性氧(ROS)水平,影响线粒体功能,从而导致细胞凋亡,诱发肝损伤。(6)HBx可以触发内质网应激并激活自噬,可以结合PI3KC3或激活miR-192-3p-XIAP信号通路增强自噬,促进HBV的复制和病毒颗粒的形成及释放,从而加重疾病^[18]。然而,也有研究^[19]提出后期自噬降解可以减少细胞中的HBV负荷。这提示自噬可能在HBV感染中具有双重作用,还有研究表明自噬可能通过影响肿瘤细胞^[20],也可能通过激活免疫反应来发挥抗肿瘤作用^[21]。(7)HBx可上调缺氧诱导因子-1 α 的稳定性和转录活性,以及血管内皮生长因子和血管生成素2的表达,从而促进血管生成^[22]。(8)HBx能通过上调MT2-MMP和COX-2,促进MMP-3的转录,上调uPA的表达以增强细胞侵袭性。HBx反激活其他细胞蛋白,诱导内质网应激,促使肝细胞转化^[23]。(9)HBx促进Smc5/6复合物的降解使得病毒复制增加,并通过损害DNA双链断裂的同源重组修复促进细胞转化^[24]。(10)HBx激活DLEU2并与其相互作用可能对病毒的致病性及肝癌的发展有重要作用^[25]。(11)HBx蛋白顺式激活人端粒酶逆转录酶(hTERT)的转录表达,从而导致胆管上皮细胞增殖、分化甚至肿瘤的发生^[24]。(12)HBx可能通过调节pgRNA转录来促进HBV的致癌性^[26]。(13)除了刺激病毒转录外,HBx还可以通过上调DNA甲基转移酶(DNMT1、DNMT3A1和DNMT3A2)水平来抑制基因表达,增加总DNMT活性,并选择性地促进某些抑癌基因启动子区域内的高甲基化^[27],促进癌症发生。(14)HBx蛋白还可通过上调糖酵解和脂肪酸氧化促进肿瘤细胞的存活和干性,导致小鼠肿瘤的生长^[28]。HBx-HDAC1复合物被发现可抑制糖原合酶2的表达,并通过与乙酰化p53相互作用调节糖原代谢,促进HCC的发生^[29]。

2.1.2 HBV整合 通常认为,HBV整合、HBx蛋白、慢性炎症和肝细胞再生以及化学致癌作用等会导致肝癌的发生,其中,HBV整合虽不是病毒复制所必需的,但它可以通过诱导染色体不稳定、基因组损伤以及调节病毒癌蛋白的表达来促进肝癌的发生^[12,30],并且,HBV整合数量可能与疾病进展呈正相关。在HBV感染早期即免

疫耐受期,或体外细胞模型感染后1~3h内,HBV整合就已发生,病毒整合后,肝细胞发生克隆性扩增导致肝损伤,通过克隆性扩增产生的病毒整合到致癌基因中会增加癌细胞的负担,这可能导致受影响的基因功能失调,从而促进癌症发生^[31]。因此,有研究者^[30]提出3种原发性肝癌的发生可能存在共同的病毒相关机制。已有研究^[32]通过全基因组测序、深度测序及RNA测序等方式指出HBV整合可以促进肝细胞的癌变和基因损伤,从而促进肝癌的发展。HBV整合与染色体的不稳定性有关,其在肿瘤和非肿瘤组织之间的整合模式明显不同。在非肿瘤组织中,整合似乎是随机或非克隆性的,并非都能被激活;而在肿瘤组织中,HBV插入率更高^[33],研究发现,HBV整合位点在ICC患者的肿瘤组织中显著富集于脆弱位点、重复区域、CpG岛和端粒附近^[30,33-34],这些区域与基因转录调控相关,且只有当HBV整合在具有致癌功能的宿主基因(如IROFs)时,才能最终促进肝细胞的恶性转化^[35]。在CpG岛中,DNA甲基化通常早于肿瘤出现,CpG岛与基因组稳定性密切相关,主要位于基因转录调控区的启动子和外显子区域,染色体上CpG位点的基因组和表观遗传调控在肝癌中起重要作用。一项研究^[36]发现,与HBV阴性ICC患者相比,HBV阳性ICC患者的肿瘤较大,恶性程度较高,更易发生微血管浸润及周围淋巴结浸润等,而HBV阴性ICC患者则较少出现表观遗传改变。推测,CpG岛甲基化/低甲基化的表观遗传不稳定性可能导致HBV-ICC的染色体不稳定性。一些研究表明,整合靶向宿主基因(ITGs)在细胞凋亡、转录调控、发育分化、肿瘤相关通路负调控等显著富集^[33-34],与转录调控相关的基因畸变可能会将影响范围扩大到其下游调控基因,从而扩大HBV整合的影响范围^[33,35]。近期也有研究^[37]指出ITGs通过表观遗传调控和氧化磷酸化等途径参与ICC的发生发展。与土拨鼠肝炎病毒(WHV)主要整合在宿主基因组的某些区域不同,在人类基因组中,HBV整合更具随机性。但仍有热点整合基因,比如hTERT、MLL4、KMT2B和CCNE1等,这些基因已被证实与一系列的肿瘤进展有关。端粒酶的激活是几乎所有癌症逃避复制衰老和增加感染细胞增殖能力的共同途径,在癌症发生过程中,一些细胞可以通过端粒酶的再激活来维持端粒,从而克服衰老。HBV整合会导致TERT明显上调,TERT表达及端粒延长与肿瘤侵袭性和较差的预后有关^[30,33]。研究^[32]发现,在HBV-ICC患者中,TERT启动子为最常见的整合位点,这在非病毒ICC中罕见,该研究还揭示了位于染色体9p21.3上

的DMRTA1和LINC01239基因之间的异常融合,这导致mTOR/4EBP/S6K信号通路的激活,而该通路的激活能促进肿瘤细胞增殖和存活能力,还可能影响细胞分化和迁移,从而进一步促进ICC的发展。HBV整合也可以产生并持续表达突变的HBV蛋白,如c端截断的HBx蛋白(Ct-HBx)或preS/S,这些突变已被证实可使肝细胞获得生存优势,可能会反激活肿瘤发生相关信号通路^[23],这可能会促进ICC的发展。插入的HBV基因组片段本身可能发生突变而导致致癌性增强,如Ct-HBx、L-HBs或MHBst^[23]。其中,Ct-HBx在一项HCC研究^[38]中被发现具有干细胞样特性,能促进癌基因RAS和MYC转化特性,抑制细胞凋亡,重塑糖代谢促进肿瘤发生以及与肿瘤侵袭性有关。

2.2 间接致癌作用 慢性炎症作为癌症进展的重要因素之一,可以为TME提供生物活性因子,并能通过多种机制促进细胞增殖和癌基因突变,导致表观遗传畸变而致癌^[12,39]。HBV可以通过炎症过程参与ICC的发生^[40]。在HBV感染后的慢性炎症刺激下,宿主基因组发生大量体细胞突变,并在癌症发生中起重要作用。通常来说,慢性胆道炎症状态易导致TP53、KRAS、MYC、IDH1及IDH2等基因发生突变。HBV感染与TP53突变密切相关,而TP53和KRAS突变的病例预后较差^[32]。一些生长因子和细胞因子的过度调节能促进细胞增殖和血管生成,从而促进癌症的发生,包括肿瘤坏死因子、血管内皮生长因子、白细胞介素-6、肝细胞生长因子和TGF- β 等^[39]。慢性炎症状态会促进细胞死亡,从而使得肝细胞代偿性增殖,导致端粒缩短。相应的,TERT突变导致的端粒酶活性降低、端粒缩短也与成人肝硬化风险增加有关^[41]。这提示慢性炎症、TERT及癌症发生发展之间存在复杂的相互作用。

在长期的宿主-病毒相互作用中,免疫介导的细胞溶解可能导致纤维化,并最终导致肝硬化。据流行病学数据^[5]可知肝硬化是ICC的风险因素,研究发现在肝硬化患者中,染色体重塑及代谢酶相关基因的突变率较高,这可能是肝硬化通过影响肝细胞再生及抑癌基因失活等从而影响了TMB。尚不清楚HBV-ICC的发生是由病毒直接引起,还是与慢性感染导致肝硬化的最终发展更有关联。

2.3 其他途径 HBV-ICC的发生发展是由多种致病机制驱动的,包括细胞-细胞连接水平的降低,上皮-间质转化程序的增加以及免疫抑制性环境的改变^[42]。

免疫抑制性微环境使得病毒免疫逃逸,促进肝细胞

恶性转化。数据^[43]显示,免疫疗法对于ICC疗效有限。在HBV-HCC相关研究中显示,外周血中性粒细胞/淋巴细胞比率(NLR)增加与Foxp3⁺Tregs细胞数量增加及疾病进展呈正相关^[44],较高密度的CD8⁺T淋巴细胞提示预后较好,而具有较高密度Foxp3⁺Tregs或PD1⁺则提示预后较差。与HCC相比,在ICC样本中CD8⁺T淋巴细胞密度较低,Foxp3⁺Treg和免疫检查点强度较高,这可能表明ICC中病毒免疫逃逸能力更强^[45]。ICC可分为大胆管型和小胆管型,通常认为,慢性病毒性肝炎与小胆管型ICC更有关联,小胆管型ICC中异柠檬酸脱氢酶(IDH)基因突变发生率为4%~25%,而大胆管型ICC中几乎不发生IDH基因突变^[46]。有研究^[46-47]表明IDH1突变可以抑制STAT1信号和CD8⁺T淋巴细胞聚集,从而促进胶质瘤的免疫逃避能力。IDH1/2突变是靶向抑制剂治疗ICC的重要靶点^[48]。在CHB患者中,病毒特异性CD8⁺T淋巴细胞上PD-1、CTLA-4、CD244和其他抑制性受体的表达增加,介导T淋巴细胞耗竭^[49]。CHB患者的ROS含量显著高于已治愈及健康人群,而ROS能促进T淋巴细胞耗竭^[50]。在CHB患者中,TME细胞,如肿瘤浸润淋巴细胞活性发生显著改变,导致免疫抑制。HBsAg可以显著抑制自然杀伤细胞的功能,使得自然杀伤细胞清除HBV的功能受损,也会促进CD8⁺T淋巴细胞的衰竭^[51]。HBeAg可通过诱导NLRP3的激活和IL-1 β 的产生,导致HBV免疫耐受^[52]。HBeAg可诱导B7-H1(PD-L1)上调、促进树突状细胞凋亡,导致HBV免疫逃逸^[53]。免疫抑制性微环境在肿瘤发生发展中起着重要作用。需要注意的是,在清除病毒的过程中诱导的免疫反应可能导致肝脏炎症,继而导致肿瘤的发生。HBV调节免疫细胞耗竭、促进免疫抑制性微环境形成的具体机制尚有待进一步探索。

HBV诱导的代谢重编程可能通过影响细胞外环境而促进肿瘤发生。肝脏是重要的代谢器官,在CHB患者肝脏中,HBV可以激活糖酵解促进乳酸生成,后者与线粒体抗病毒信号蛋白(MAVS)结合,抑制RIG-I/MAVS相互作用,阻断RLR信号,导致病毒逃避先天免疫系统^[54]。CHB人群肝脏中氨基酸耗竭会影响蛋白质和T淋巴细胞中的核苷酸合成,使得细胞的活化和功能受到影响^[55]。目前,关于HBV相关代谢重编程在ICC发生发展的具体机制研究有限,有待进一步探究。

由于“肠-肝轴”的存在,肠道菌群及其代谢产物也会影响肝病的进展。国内一项研究^[56]发现,CHB人群的肠道菌群多样性较健康人群低,具体表现为有益菌群

丰度降低,有害菌群丰度增加,并且该趋势与疾病的进展程度密切相关。HBV-HCC患者肠道菌群失调与TME中的炎症水平和Tregs数量有关,可见,肠道菌群及其代谢产物可能通过影响免疫反应而导致肝病的发展。进一步研究肠道菌群及其代谢特征在影响TME方面的作用,有望使CHB人群获益。

3 小结

HBV-ICC的发生和发展是多因素累积,多种机制相互作用的结果(图1),随着研究的进展,新的致病机制被提出,但仍有许多问题需要解决。由于缺乏适当的HBV感染模型,进展受到严重阻碍。HBV-ICC的发生发展领域需要更多的研究,例如,肝细胞内HBV负荷与ICC的发生发展有何关系;HBV的哪些病毒成分能导致ICC的发生发展;HBV整合与肝癌干细胞特性之间的关联、与其他基因突变之间的相互作用等。肝切除术是较早期ICC的有效治疗手段,但因手术后极易复发与转移,预后仍然不理想。新的治疗方法,如基因治疗和免疫调节治疗也在研究中,但这些研究尚处于实验室或者临床试验阶段。进一步研究HBV-ICC的发生发展机制,对于更全

面地了解其发病过程,寻找更有效的治疗靶点和治疗策略有重要意义。

利益冲突声明: 本文不存在任何利益冲突。

作者贡献声明:田奇玉负责查阅及分析文献,撰写论文;余建负责拟定论文框架及论文修改;黄罡负责指导撰写文章并最终定稿。

参考文献:

- [1] MORIS D, PALTA M, KIM C, et al. Advances in the treatment of intrahepatic cholangiocarcinoma: An overview of the current and future therapeutic landscape for clinicians[J]. CA Cancer J Clin, 2023, 73(2): 198-222. DOI: 10.3322/caac.21759.
- [2] BERTUCCIO P, MALVEZZI M, CARIOLI G, et al. Global trends in mortality from intrahepatic and extrahepatic cholangiocarcinoma[J]. J Hepatol, 2019, 71(1): 104-114. DOI: 10.1016/j.jhep.2019.03.013.
- [3] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249. DOI: org/10.3322/caac.21660.
- [4] RUMGAY H, ARNOLD M, FERLAY J, et al. Global burden of primary liver cancer in 2020 and predictions to 2040[J]. J Hepatol, 2022, 77(6): 1598-1606. DOI: 10.1016/j.jhep.2022.08.021.
- [5] TAVOLARI S, BRANDI G. Mutational landscape of cholangiocarcinoma according to different etiologies: A review[J]. Cells, 2023, 12(9): 1216.

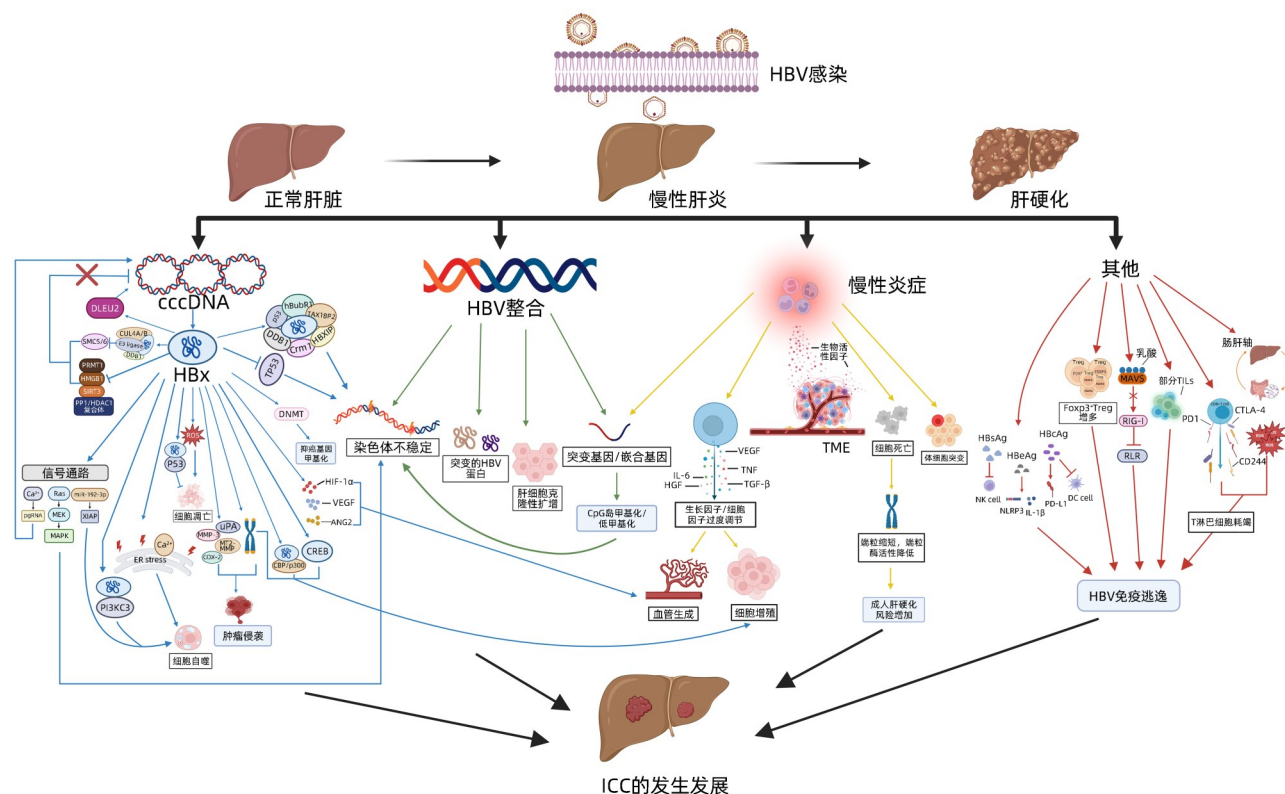


图1 乙型肝炎相关ICC发生发展的主要机制

Figure 1 The main mechanisms of HBV contribute to the development and progression of ICC

- DOI: 10.3390/cells12091216.
- [6] SONG ZM, LIN SR, WU XW, et al. Hepatitis B virus-related intrahepatic cholangiocarcinoma originates from hepatocytes[J]. *Hepatol Int*, 2023, 17(5): 1300-1317. DOI: 10.1007/s12072-023-10556-3.
 - [7] SLAGLE BL, BOUCHARD MJ. Role of HBx in hepatitis B virus persistence and its therapeutic implications[J]. *Curr Opin Virol*, 2018, 30: 32-38. DOI: 10.1016/j.coviro.2018.01.007.
 - [8] RIVIÈRE L, GEROSIER L, DUCROUX A, et al. HBx relieves chromatin-mediated transcriptional repression of hepatitis B viral cccDNA involving SETDB1 histone methyltransferase[J]. *J Hepatol*, 2015, 63(5): 1093-1102. DOI: 10.1016/j.jhep.2015.06.023.
 - [9] DECORSIÈRE A, MUELLER H, van BREUGEL PC, et al. Hepatitis B virus X protein identifies the Smc5/6 complex as a host restriction factor[J]. *Nature*, 2016, 531(7594): 386-389. DOI: 10.1038/nature17170.
 - [10] BELLONI L, POLLICINO T, de NICOLA F, et al. Nuclear HBx binds the HBV minichromosome and modifies the epigenetic regulation of cccDNA function[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(47): 19975-19979. DOI: 10.1073/pnas.0908365106.
 - [11] SONG GJ, YANG RF, JIN Q, et al. HBV pregenome RNA as a predictor of spontaneous HBeAg seroconversion in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients[J]. *BMC Gastroenterol*, 2023, 23(1): 381. DOI: 10.1186/s12876-023-03023-8.
 - [12] LEE WY, BACHTIAR M, CHOO CCS, et al. Comprehensive review of Hepatitis B Virus-associated hepatocellular carcinoma research through text mining and big data analytics[J]. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 2019, 94(2): 353-367. DOI: 10.1111/brv.12457.
 - [13] ZHOU YM, CAO L, LI B, et al. Expression of HBx protein in hepatitis B virus-infected intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2012, 11(5): 532-535. DOI: 10.1016/s1499-3872(12)60219-7.
 - [14] COUGOT D, ALLEMAND E, RIVIÈRE L, et al. Inhibition of PP1 phosphatase activity by HBx: A mechanism for the activation of hepatitis B virus transcription[J]. *Sci Signal*, 2012, 5(205): ra1. DOI: 10.1126/scisignal.2001906.
 - [15] KIM WH, HONG F, JARUGA B, et al. Hepatitis B virus X protein sensitizes primary mouse hepatocytes to ethanol- and TNF-alpha-induced apoptosis by a caspase-3-dependent mechanism[J]. *Cell Mol Immunol*, 2005, 2(1): 40-48.
 - [16] PAN JB, DUAN LX, SUN BS, et al. Hepatitis B virus X protein protects against anti-Fas-mediated apoptosis in human liver cells by inducing NF-kappa B[J]. *J Gen Virol*, 2001, 82(Pt 1): 171-182. DOI: 10.1099/0022-1317-82-1-171.
 - [17] WANG P, GUO QS, WANG ZW, et al. HBx induces HepG-2 cells autophagy through PI3K/Akt-mTOR pathway[J]. *Mol Cell Biochem*, 2013, 372(1-2): 161-168. DOI: 10.1007/s11010-012-1457-x.
 - [18] WANG XY, WEI ZQ, CHENG B, et al. Endoplasmic reticulum stress promotes HBV production by enhancing use of the autophagosome/multivesicular body axis[J]. *Hepatology*, 2022, 75(2): 438-454. DOI: 10.1002/hep.32178.
 - [19] LIN Y, WU CC, WANG XY, et al. Hepatitis B virus is degraded by autophagosome-lysosome fusion mediated by Rab7 and related components[J]. *Protein Cell*, 2019, 10(1): 60-66. DOI: 10.1007/s13238-018-0555-2.
 - [20] ZHANG H, ZHANG YQ, ZHU XY, 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.
 - [21] YAN Y, LIU N, LU L, et al. Autophagy enhances antitumor immune responses induced by irradiated hepatocellular carcinoma cells engineered to express hepatitis B virus X protein[J]. *Oncol Rep*, 2013, 30(2): 993-999. DOI: 10.3892/or.2013.2531.
 - [22] SANZ-CAMENO P, MARTÍN-VÍLCHEZ S, LARA-PEZZI E, et al. Hepatitis B virus promotes angiopoietin-2 expression in liver tissue: Role of HBV x protein[J]. *Am J Pathol*, 2006, 169(4): 1215-1222. DOI: 10.2353/ajpath.2006.051246.
 - [23] LEVRERO M, ZUCMAN-ROSSI J. Mechanisms of HBV-induced hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatol*, 2016, 64(1 Suppl): S84-S101. DOI: 10.1016/j.jhep.2016.02.021.
 - [24] ZOU SQ, QU ZL, LI ZF, et al. Hepatitis B virus X gene induces human telomerase reverse transcriptase mRNA expression in cultured normal human cholangiocytes[J]. *World J Gastroenterol*, 2004, 10(15): 2259-2262. DOI: 10.3748/wjg.v10.i15.2259.
 - [25] SALERNO D, CHIODO L, ALFANO V, et al. Hepatitis B protein HBx binds the DLEU2 lncRNA to sustain cccDNA and host cancer-related gene transcription[J]. *Gut*, 2020, 69(11): 2016-2024. DOI: 10.1136/gutjnl-2019-319637.
 - [26] DING WB, WANG MC, YU J, et al. HBV/pregenomic RNA increases the stemness and promotes the development of HBV-related HCC through reciprocal regulation with insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 3[J]. *Hepatology*, 2021, 74(3): 1480-1495. DOI: 10.1002/hep.31850.
 - [27] ZHENG DL, ZHANG L, CHENG N, et al. Epigenetic modification induced by hepatitis B virus X protein via interaction with *de novo* DNA methyltransferase DNMT3A[J]. *J Hepatol*, 2009, 50(2): 377-387. DOI: 10.1016/j.jhep.2008.10.019.
 - [28] CHEN YY, WANG WH, CHE L, et al. BNIP3L-dependent mitophagy promotes HBx-induced cancer stemness of hepatocellular carcinoma cells via glycolysis metabolism reprogramming[J]. *Cancers*, 2020, 12(3): 655. DOI: 10.3390/cancers12030655.
 - [29] CHEN SL, ZHANG CZ, LIU LL, et al. A GYS2/p53 negative feedback loop restricts tumor growth in HBV-related hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2019, 79(3): 534-545. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-18-2357.
 - [30] ZHAO LH, WANG Y, TIAN T, et al. Analysis of viral integration reveals new insights of oncogenic mechanism in HBV-infected intrahepatic cholangiocarcinoma and combined hepatocellular-cholangiocarcinoma[J]. *Hepatol Int*, 2022, 16(6): 1339-1352. DOI: 10.1007/s12072-022-10419-3.
 - [31] MASON WS, GILL US, LITWIN S, et al. HBV DNA integration and clonal hepatocyte expansion in chronic hepatitis B patients considered immune tolerant[J]. *Gastroenterology*, 2016, 151(5): 986-998. e4. DOI: 10.1053/j.gastro.2016.07.012.
 - [32] AN J, KIM D, OH B, et al. Comprehensive characterization of viral integrations and genomic aberrations in HBV-infected intrahepatic cholangiocarcinomas[J]. *Hepatology*, 2022, 75(4): 997-1011. DOI: 10.1002/hep.32135.
 - [33] ZHAO LH, LIU X, YAN HX, et al. Genomic and oncogenic preference of HBV integration in hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 12992. DOI: 10.1038/ncomms12992.
 - [34] JANG JW, KIM HS, KIM JS, et al. Distinct patterns of HBV integration and *TERT* alterations between in tumor and non-tumor tissue in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(13): 7056. DOI: 10.3390/ijms22137056.
 - [35] LI XJ, ZHANG JB, YANG ZW, et al. The function of targeted host genes determines the oncogenicity of HBV integration in hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatol*, 2014, 60(5): 975-984. DOI: 10.1016/j.jhep.2013.12.014.
 - [36] HUANG XL, YU D, GU XT, et al. A comparative study of clinicopathological and imaging features of HBV-negative and HBV-positive intrahepatic cholangiocarcinoma patients with different pathologic differ-

- entiation degrees[J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 19726. DOI: 10.1038/s41598-023-47108-6.
- [37] ZOU SS, LI JR, ZHOU HB, et al. Mutational landscape of intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 5696. DOI: 10.1038/ncomms6696.
- [38] SZE KMF, CHU GKY, LEE JMF, et al. C-terminal truncated hepatitis B virus x protein is associated with metastasis and enhances invasiveness by C-Jun/matrix metalloproteinase protein 10 activation in hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2013, 57(1): 131-139. DOI: 10.1002/hep.25979.
- [39] FRAGKOU N, SIDERAS L, PANAS P, et al. Update on the association of hepatitis B with intrahepatic cholangiocarcinoma: Is there new evidence? [J]. *World J Gastroenterol*, 2021, 27(27): 4252-4275. DOI: 10.3748/wjg.v27.i27.4252.
- [40] GATSELIS NK, TEPETES K, LOUKOPOULOS A, et al. Hepatitis B virus and intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *Cancer Investig*, 2007, 25(1): 55-58. DOI: 10.1080/07357900601130722.
- [41] CALADO RT, BRUDNO J, MEHTA P, et al. Constitutional telomerase mutations are genetic risk factors for cirrhosis[J]. *Hepatology*, 2011, 53(5): 1600-1607. DOI: 10.1002/hep.24173.
- [42] SHEN YF, XU SS, YE CQ, et al. Proteomic and single-cell landscape reveals novel pathogenic mechanisms of HBV-infected intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *iScience*, 2023, 26(2): 106003. DOI: 10.1016/j.isci.2023.106003.
- [43] ILYAS SI, AFFO S, GOYAL L, et al. Cholangiocarcinoma-novel biological insights and therapeutic strategies[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2023, 20(7): 470-486. DOI: 10.1038/s41571-023-00770-1.
- [44] GONG J, LIANG YL, ZHOU WY, et al. Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio associated with prognosis in HBV-infected patients [J]. *J Med Virol*, 2018, 90(4): 730-735. DOI: 10.1002/jmv.25015.
- [45] ZHENG BH, MA JQ, TIAN LY, et al. The distribution of immune cells within combined hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma predicts clinical outcome[J]. *Clin Transl Med*, 2020, 10(1): 45-56. DOI: 10.1002/ctm2.11.
- [46] MA BQ, MENG HJ, TIAN Y, et al. Distinct clinical and prognostic implication of IDH1/2 mutation and other most frequent mutations in large duct and small duct subtypes of intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *BMC Cancer*, 2020, 20(1): 318. DOI: 10.1186/s12885-020-06804-6.
- [47] KOHANBASH G, CARRERA DA, SHRIVASTAV S, et al. Isocitrate dehydrogenase mutations suppress STAT1 and CD8⁺ T cell accumulation in gliomas[J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(4): 1425-1437. DOI: 10.1172/JCI90644.
- [48] KENDALL T, VERHEIJ J, GAUDIO E, et al. Anatomical, histomorphological and molecular classification of cholangiocarcinoma[J]. *Liver Int*, 2019, 39(Suppl 1): 7-18. DOI: 10.1111/liv.14093.
- [49] TJWA ETTL, VAN OORD GW, HEGMANS JP, et al. Viral load reduction improves activation and function of natural killer cells in patients with chronic hepatitis B[J]. *J Hepatol*, 2011, 54(2): 209-218. DOI: 10.1016/j.jhep.2010.07.009.
- [50] FISICARO P, BARILI V, MONTANINI B, et al. Targeting mitochondrial dysfunction can restore antiviral activity of exhausted HBV-specific CD8 T cells in chronic hepatitis B[J]. *Nat Med*, 2017, 23(3): 327-336. DOI: 10.1038/nm.4275.
- [51] TENG CF, LI TC, WANG T, et al. Increased infiltration of regulatory T cells in hepatocellular carcinoma of patients with hepatitis B virus pre-S2 mutant[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 1136. DOI: 10.1038/s41598-020-80935-5.
- [52] YU X, LAN PX, HOU XB, et al. HBV inhibits LPS-induced NLRP3 inflammasome activation and IL-1 β production via suppressing the NF- κ B pathway and ROS production[J]. *J Hepatol*, 2017, 66(4): 693-702. DOI: 10.1016/j.jhep.2016.12.018.
- [53] LI M, ZHOU ZH, SUN XH, et al. Hepatitis B core antigen upregulates B7-H1 on dendritic cells by activating the AKT/ERK/P38 pathway: A possible mechanism of hepatitis B virus persistence[J]. *Lab Invest*, 2016, 96(11): 1156-1164. DOI: 10.1038/labinvest.2016.96.
- [54] ZHOU L, HE R, FANG PN, et al. Hepatitis B virus rigs the cellular metabolome to avoid innate immune recognition[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 98. DOI: 10.1038/s41467-020-20316-8.
- [55] FISICARO P, BONI C, BARILI V, et al. Strategies to overcome HBV-specific T cell exhaustion: Checkpoint inhibitors and metabolic reprogramming[J]. *Curr Opin Virol*, 2018, 30: 1-8. DOI: 10.1016/j.coviro.2018.01.003.
- [56] YAN FN, ZHANG Q, SHI K, et al. Gut microbiota dysbiosis with hepatitis B virus liver disease and association with immune response [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2023, 13: 1152987. DOI: 10.3389/fcimb.2023.1152987.

收稿日期: 2023-07-19; 录用日期: 2023-11-20

本文编辑: 王亚南

引证本文: TIAN QY, YU J, HUANG G. Pathogenesis of hepatitis B-associated intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *J Clin Hepatol*, 2024, 40(4): 797-803.

田奇玉, 余建, 黄罡. 乙型肝炎相关肝内胆管癌的发病机制[J]. *临床肝胆病杂志*, 2024, 40(4): 797-803.