

## 夏枯草来源外泌体装载奥利司他通过调控脂代谢抑制肝癌细胞生长

陶梦娟<sup>1,2</sup>, 梁子成<sup>3</sup>, 方霞溢<sup>1,2</sup>, 谭小宁<sup>2\*</sup>, 曾普华<sup>2,4\*</sup>

1. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208

2. 湖南省中西医结合医院, 湖南 长沙 410006

3. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053

4. 湖南省中医药研究院肿瘤研究所, 湖南 长沙 410006

**摘要:** **目的** 探讨夏枯草来源外泌体装载奥利司他 (*Prunella vulgaris*-derived exosomes loading orlistat, PVENs-Orl) 对肝癌细胞脂代谢及恶性生物学行为的影响及其潜在机制。**方法** 采用超速离心法提取 PVENs, 经透射电镜 (transmission electron microscopy, TEM) 及纳米颗粒追踪分析 (nanoparticle tracking analysis, NTA) 表征后, 构建 PVENs-Orl 载药系统。通过 CCK-8、克隆、划痕及 Transwell 实验评估 PVENs-Orl 对 HepG2 细胞增殖、迁移与侵袭的抑制作用。检测游离脂肪酸 (free fatty acid, FFA) 摄取、脂肪酸合成酶 (fatty acid synthase, FASN) 活性、三酰甘油 (triglyceride, TG) 含量、脂质过氧化指标及线粒体膜电位与形态。采用 qRT-PCR 检测脂代谢与铁死亡相关基因 [酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4 (acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, *ACSL4*)、谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, *GPX4*)、溶质载体家族 7 成员 11 (solute carrier family 7 member 11, *SLC7A11*)、B 细胞淋巴瘤-2 相互作用蛋白 3 (Bcl-2 interacting protein 3, *BNIP3L*)、溶血磷脂酰胆碱酰基转移酶 3 (lysophosphatidylcholine acyltransferase 3, *LPCAT3*)、转铁蛋白受体 (transferrin receptor, *TFRC*)] 的表达。**结果** 成功提取并表征了 PVENs, 构建的 PVENs-Orl 能被 HepG2 细胞有效内化。PVENs 及 PVENs-Orl 呈剂量相关性抑制 HepG2 细胞的增殖、迁移与侵袭 ( $P < 0.001$ )。在脂代谢表型上, PVENs-Orl 能抑制 FASN 活性 ( $P < 0.01$ ), 同时引起细胞内 FFA 与 TG 蓄积 ( $P < 0.01$ )。PVENs-Orl 显著提升细胞内活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 和丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 水平 ( $P < 0.01$ 、 $0.001$ ), 增加乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 释放 ( $P < 0.001$ )。PVENs-Orl 显著诱导线粒体膜电位下降 ( $P < 0.01$ ), 并引发线粒体功能障碍 ( $P < 0.001$ )。分子机制上, PVENs-Orl 上调脂质过氧化及铁死亡促进相关基因表达 ( $P < 0.001$ ), 下调抗氧化及铁死亡抑制相关基因表达 ( $P < 0.001$ )。**结论** PVENs 可有效递送奥利司他, 通过抑制 FASN 活性破坏脂质稳态, 诱导线粒体功能障碍和脂质过氧化, 并协同调控铁死亡关键基因表达, 从而抑制肝癌细胞生长, 为基于天然外泌体的脂代谢靶向治疗提供了实验依据。

**关键词:** 肝癌; 夏枯草; 外泌体; 奥利司他; 脂质代谢; 铁死亡

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)12-4708-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.12.016

## *Prunella vulgaris*-derived exosomes loading orlistat inhibit liver cancer cells growth by regulating lipid metabolism

TAO Mengjuan<sup>1,2</sup>, LIANG Zicheng<sup>3</sup>, FANG Xiayi<sup>1,2</sup>, TAN Xiaoning<sup>2</sup>, ZENG Puhua<sup>2,4</sup>

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

2. Hunan Provincial Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Changsha 410006, China

3. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China

4. Cancer Research Institute, Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410006, China

**Abstract: Objective** To investigate the effect and underlying mechanism of *Prunella vulgaris*-derived exosomes loaded with orlistat

收稿日期: 2026-01-24

**基金项目:** 国家自然科学基金面上项目 (82571574); 国家自然科学基金面上项目 (82074425); 湖南省重点研发计划项目 (2023SK2057); 湖南省自然科学基金资助项目 (2023JJ40403, 2025JJ30038); 湖南省中医药管理局研究项目 (B2023089); 湖南中医药大学研究生创新项目 (2025CX188, 2025CX199)

**作者简介:** 陶梦娟, 女, 硕士研究生, 研究方向为中西医结合抗肿瘤研究。E-mail: 13973195144@163.com

**\*通信作者:** 谭小宁, 女, 副研究员, 从事中医药抗肿瘤机制研究。E-mail: xiaoning202601@163.com

曾普华, 男, 主任医师, 从事中西医结合肿瘤临床与科研工作。E-mail: tcm\_120@126.com

(PVENs-Orl) on lipid metabolism and malignant biological behaviors of hepatoma cells. **Methods** PVENs were extracted by ultracentrifugation. After characterization by transmission electron microscopy (TEM) and nanoparticle tracking analysis (NTA), a PVENs-Orl drug delivery system was constructed. The inhibitory effects of PVENs-Orl on the proliferation, migration and invasion of HepG2 cells were evaluated through CCK-8, cloning, scratch and Transwell assays. The free fatty acids (FFA) uptake, fatty acid synthase (FASN) activity, triglyceride (TG) content, lipid peroxidation indicators and mitochondrial membrane potential and morphology were detected. The expressions of genes related to lipid metabolism and ferroptosis [acyl-CoA synthetase long-chain family member 4 (*ACSL4*), glutathione peroxidase 4 (*GPX4*), solute carrier family 7 member 11 (*SLC7A11*), B-cell lymphoma-2 interacting protein 3 (*BNIP3L*), lysophosphatidylcholine acyltransferase 3 (*LPCAT3*), transferrin receptor (*TFRC*)] was detected by qRT-PCR. **Results** The PVENs were successfully extracted and characterized, and the constructed PVENs-Orl could be effectively internalized by HepG2 cells. PVENs and PVENs-Orl exhibited dose-dependent inhibition of the proliferation, migration and invasion of HepG2 cells ( $P < 0.001$ ). In terms of lipid metabolism phenotype, PVENs-Orl could inhibit FASN activity ( $P < 0.01$ ), and simultaneously cause intracellular accumulation of FFA and TG ( $P < 0.01$ ). PVENs-Orl significantly increased the levels of intracellular reactive oxygen species (ROS) and malondialdehyde (MDA) ( $P < 0.01, 0.001$ ), and increased the release of lactate dehydrogenase (LDH) ( $P < 0.001$ ). PVENs-Orl significantly induced a decrease in mitochondrial membrane potential ( $P < 0.01$ ) and triggered mitochondrial dysfunction ( $P < 0.001$ ). At the molecular mechanism level, PVENs-Orl upregulated the expressions of genes related to lipid peroxidation and ferroptosis promotion ( $P < 0.001$ ), and downregulated the expressions of genes related to antioxidant and ferroptosis inhibition ( $P < 0.001$ ). **Conclusion** PVENs could effectively deliver orlistat, disrupt lipid homeostasis by inhibiting FASN activity, induce mitochondrial dysfunction and lipid peroxidation, and synergistically regulate the expressions of key genes involved in ferroptosis, thereby inhibiting the growth of liver cancer cells. This provides experimental evidence for targeted lipid metabolism therapy based on natural exosomes.

**Key words:** liver cancer; *Prunella vulgaris* L.; exosomes; orlistat; lipid metabolism; ferroptosis

肝细胞癌是全球常见且预后较差的恶性肿瘤，其治疗面临术后高复发与晚期耐药等挑战<sup>[1-3]</sup>。近年研究发现，肿瘤代谢重编程尤其是脂质代谢异常在肝癌发生发展中起关键作用<sup>[4-5]</sup>。肝癌细胞高度依赖内源性脂肪酸合成，其中脂肪酸合成酶（fatty acid synthase, FASN）作为限速酶显著高表达，成为潜在治疗靶点<sup>[6-9]</sup>。奥利司他是一种 FASN 抑制剂，具有抗肿瘤潜力，但其较强的疏水性导致水溶性极差，体内代谢迅速，生物利用度低，难以在肿瘤部位维持有效治疗浓度，限制了其临床转化与应用<sup>[10-12]</sup>。因此，寻找能够有效递送奥利司他的新型载体，改善其药动学特性，是实现其抗肿瘤价值的关键。外泌体作为天然纳米载体，具有良好的生物相容性与低免疫原性，植物来源外泌体更具备来源广泛、成本低廉等优势<sup>[13]</sup>。近年来，植物来源的外泌体因其具有生物相容性好、免疫原性低、稳定性高、易于跨越生物屏障以及来源广泛、成本低廉等优势，作为新型药物递送载体受到了广泛关注<sup>[14-15]</sup>。夏枯草具有抗肿瘤、抗炎和免疫调节等多种活性<sup>[16]</sup>，推测源自夏枯草的外泌体不仅本身可能继承其母体植物的部分生物活性，更可作为奥利司他的理想天然纳米载体，构建一种基于天然产物的生物递送系统。因此，本研究拟构建夏枯草来源外泌体装载奥利司

他（*Prunella vulgaris*-derived exosomes loading orlistat, PVENs-Orl）递送系统，探讨其对肝癌细胞脂代谢及恶性生物学行为的影响及潜在机制，为基于天然外泌体的脂代谢靶向治疗提供实验依据。

## 1 材料

### 1.1 细胞

人肝癌 HepG2 细胞（货号 CL-0103）购自武汉普诺赛生命科技有限公司。

### 1.2 药材

新鲜夏枯草全株来源于湖南省中西医结合医院药房，经湖南省中西医结合医院曾普华教授及邓芳教授鉴定为唇形科植物夏枯草 *Prunella vulgaris* L. 的干燥全草。

### 1.3 药品与试剂

顺铂（批号 H20023461）购自齐鲁制药有限公司；DMEM 高糖培养基（批号 PM150210B）、胎牛血清（批号 164220）、青霉素-链霉素溶液（批号 PB180120）购自武汉普诺赛生物科技有限公司；索拉非尼（货号 HY-10201，质量分数为 99.84%）、铁死亡激动剂 RSL3（货号 HY-100218A，质量分数为 99.85%）、CCK-8 试剂盒（货号 HY-K0301）购自美国 MedChemExpress 公司；奥利司他（货号 C4X-14994，质量分数为 99%）购自武汉倍瑞联德科技有

限公司；三酰甘油 (triglyceride, TG) 检测试剂盒 (货号 A110-1-1)、乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 测定试剂盒 (货号 A020-1)、活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 测定试剂盒 (货号 E004-1-1) 购自南京建成生物工程研究所；FASN 活性检测试剂盒 (货号 BC0550) 购自北京索莱宝科技有限公司；游离脂肪酸 (free fatty acid, FFA) 检测试剂盒 (货号 KTB2230) 购自美国 Abbkine 公司；丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 检测试剂盒 (货号 S0131)、线粒体膜电位检测试剂盒 (货号 C2006)、线粒体绿色荧光染色试剂盒 (货号 C1996) 购自上海碧云天生物技术有限公司；DiO 细胞膜绿色荧光探针 (货号 40725ES10) 购自翌圣生物科技 (上海) 股份有限公司；HotStart™ Universal 2X Green qPCR Master Mix (货号 K1170)、Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒 (货号 K2003) 购自美国 APEX BIO 公司；酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4 (acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, *ACSL4*)、谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, *GPX4*)、溶质载体家族 7 成员 11 (solute carrier family 7 member 11, *SLC7A11*)、B 细胞淋巴瘤-2 相互作用蛋白 3 (Bcl-2 interacting protein 3, *BNIP3L*)、溶血磷脂酰胆碱酰基转移酶 3 (lysophosphatidylcholine acyltransferase 3, *LPCAT3*)、转铁蛋白受体 (transferrin receptor, *TFRC*)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, *GAPDH*) 引物均由武汉赛维尔生物科技有限公司合成。

#### 1.4 仪器

Optima XE 型超速离心机 (美国贝克曼库尔特有限公司)；Q700 型超声细胞破碎仪 (美国 Branson 公司)；HT7800 型透射电子显微镜 (transmission electron microscopy, TEM, 日本日立有限公司)；ZetaView 型纳米颗粒追踪分析仪 (nanoparticle tracking analysis, NTA, 德国 Particle Metrix 公司)；373528 型徕卡显微镜 (德国徕卡公司)；Synergy H1 型多功能酶标仪 (美国 BioTek 公司)；Heracell VIOS 型细胞培养箱 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司)；LightCycler® 480 实时荧光定量 PCR 仪 (瑞士 Roche 公司)。

## 2 方法

### 2.1 PVENs 的提取与表征

将新鲜夏枯草全株和磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 溶液按 1:2 的比例放入破壁

器中, 高速切碎 5 min, 并用纱布滤过。得到的汁液分别经 1 000 r/min 离心 10 min、3 000 r/min 离心 20 min、10 000 r/min 离心 40 min, 去除大的植物组织和细胞碎片。收集上清液, 150 000 r/min 超速离心 2 h, 并在 PBS 中重新悬浮。将悬浮液分别转移到 15%、30%、45% 和 60% 蔗糖中, 150 000 r/min 超速离心 2 h, 得到纯化的 PVENs。

取 10  $\mu$ L PVENs 悬液, 滴于铜网, 2% 磷钨酸负染后, TEM 下观察其形态结构。另取适量样品稀释后, 通过 NTA 检测其粒径分布。

### 2.2 奥利司他的装载与 PVENs-Orl 的制备

采用孵育-超声法进行载药。将 1 mg 奥利司他溶于适量二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 中, 与 1 mL 含 10 mg PVENs 的 PBS 悬液混合, 使 DMSO 终体积分数低于 0.5%。将混合液于 37  $^{\circ}$ C 摇床孵育 2 h, 随后置于冰浴中, 使用超声细胞破碎仪 (功率 200 W, 超声 2 s, 间隔 3 s, 总时长 2 min) 进行辅助载药。载药后的悬液再次经 110 000  $\times$  g 超速离心 70 min, 以去除未包封的奥利司他, 沉淀用 PBS 重悬, 即得 PVENs-Orl。通过 NTA 检测载药前后纳米颗粒的粒径与 Zeta 电位变化, 以初步验证载药成功。

### 2.3 细胞培养

HepG2 细胞用含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100  $\mu$ g/mL 链霉素的 DMEM 高糖培养基, 置于 37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 的饱和湿度培养箱中培养, 取对数生长期的细胞用于后续实验。

### 2.4 CCK-8 法检测细胞活力

将对数生长期的 HepG2 细胞以  $5 \times 10^3$  个/孔接种于 96 孔板中, 培养 24 h 待细胞贴壁后, 更换为含有不同质量浓度 (0、10、20、30、40、50  $\mu$ g/mL) PVENs 或 PVENs-Orl 的新鲜培养基, 分别培养 24、48、72 h。另设置不接种细胞不给药的空白组。每孔加入 10  $\mu$ L CCK-8 溶液, 孵育 2 h 后, 用酶标仪测定 450 nm 处的吸光度 ( $A$ ) 值, 计算细胞存活率, 并利用 GraphPad Prism 9.0 软件计算半数抑制浓度 (half inhibitory concentration, IC<sub>50</sub>)。

$$\text{细胞存活率} = (A_{\text{给药}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

### 2.5 细胞摄取实验

采用绿色荧光探针 DiO 标记 PVENs 及 PVENs-Orl。将 DiO 工作液与 PVENs 或 PVENs-Orl 悬液混合, 37  $^{\circ}$ C 避光孵育 30 min, 110 000  $\times$  g 超速离心 70 min 去除游离 DiO, PBS 重悬沉淀, 即得 DiO-

PVENs 和 DiO-PVENs-Orl。将对数生长期的 HepG2 细胞以  $2 \times 10^5$  个/孔接种于共聚焦培养皿中，培养 24 h 贴壁后，分别加入等量的 DiO-PVENs 和 DiO-PVENs-Orl，37 °C 避光共孵育 4 h。弃去上清，PBS 洗涤 3 次，4%多聚甲醛固定 15 min，DAPI 染核后，于共聚焦显微镜下观察并拍照。

## 2.6 细胞功能学实验

设置对照组、PVENs ( $1/2 IC_{50}$ 、 $IC_{50}$ 、 $2 IC_{50}$ ) 组及 PVENs-Orl ( $1/2 IC_{50}$ 、 $IC_{50}$ 、 $2 IC_{50}$ ) 组和阳性对照索拉非尼 ( $10 \mu\text{mol/L}$ ) 组，考察 PVENs-Orl 对 HepG2 细胞增殖、迁移和侵袭的影响。

**2.6.1 克隆形成实验** 将对数生长期的 HepG2 细胞以 500 个/孔接种于 6 孔板中，给药干预 24 h 后更换为新鲜完全培养基，继续培养 10~14 d，结晶紫染色后计数大于 50 个细胞的克隆。

**2.6.2 划痕实验** 细胞长满单层后，用 200  $\mu\text{L}$  枪头制造划痕，PBS 清洗后更换为无血清培养基并给予相应药物干预，于 0、24 h 在显微镜下拍照，计算划痕愈合率。

划痕愈合率=(0h 划痕面积-24h 划痕面积)/0h 划痕面积

**2.6.3 Transwell 侵袭实验** 在 Transwell 上室铺覆 Matrigel 基质胶，接种含  $2 \times 10^4$  个细胞的无血清培养基，下室加入含 10% FBS 的培养基作为趋化剂，给药干预 24 h 后，擦去上室未侵袭细胞，下室细胞经 4%多聚甲醛固定、结晶紫染色后，于显微镜下随机选取 5 个视野计数。

## 2.7 脂代谢表型分析

设置对照组、PVENs ( $IC_{50}$ ) 组及 PVENs-Orl ( $IC_{50}$ ) 组和索拉非尼 ( $10 \mu\text{mol/L}$ ) 组，给药干预后，考察 PVENs-Orl 对 HepG2 细胞关键脂代谢指标的影响。

**2.7.1 FFA 摄取** 采用 CheKine™ FFA 含量检测试剂盒，通过铜离子结合法，于 550 nm 波长下检测细胞中 FFA 含量。

**2.7.2 FASN 活性** 使用 FAS 活性检测试剂盒，通过检测 340 nm 处还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) 的消耗速率，反映 FASN 酶活性。

**2.7.3 TG 含量** 采用 GPO-PAP 法 TG 测试盒，于 500 nm 波长下测定细胞内 TG 含量。

## 2.8 脂质过氧化与细胞毒性检测

设置对照组、PVENs ( $IC_{50}$ ) 组及 PVENs-Orl ( $IC_{50}$ ) 组和 RSL ( $1 \mu\text{mol/L}$ ) 组，给药干预后，按

照试剂盒说明书操作，加入 DCFH-DA 荧光探针，采用流式细胞术检测细胞内 ROS 水平；通过硫代巴比妥酸 (thiobarbituric acid, TBA) 比色法测定 MDA 水平；收集细胞上清液，按试剂盒说明书检测 LDH 活性，反映细胞膜的完整性及损伤程度。

## 2.9 线粒体功能检测

设置对照组、PVENs ( $IC_{50}$ ) 组及 PVENs-Orl ( $IC_{50}$ ) 组和 RSL ( $1 \mu\text{mol/L}$ ) 组，给药干预后，按照试剂盒说明书操作，加入 JC-1 荧光探针，于荧光显微镜下观察并拍照，以正常线粒体 (红色荧光) 与去极化线粒体 (绿色荧光) 的比例变化反映线粒体膜电位的高低。给药干预后，按照试剂盒说明书操作，加入 Mito-Tracker Green 探针，于荧光显微镜下观察线粒体结构并拍照，统计线粒体绿色荧光强度。

## 2.10 qRT-PCR 检测脂代谢与铁死亡相关基因表达

设置对照组、PVENs ( $IC_{50}$ ) 组及 PVENs-Orl ( $IC_{50}$ ) 组和 RSL ( $1 \mu\text{mol/L}$ ) 组，给药干预后，使用 TRIzol 法提取细胞总 RNA，测定浓度与纯度后，逆转录合成 cDNA。以 cDNA 为模板，使用 SYBR Green 法在 QuantStudio 5 系统上进行 qRT-PCR。以 GAPDH 为内参，采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算各基因的相对表达量。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	引物序列 (5'-3')
<i>ACSL4</i>	F: CCTGGAGCAGATACTCTGGA R: TCACTCTGCGATTCACCTCA
<i>GPX4</i>	F: GCCAAAGTCCTAGGAAACGC R: CCGGGTTGAAAGGTTTCAGGA
<i>SLC7A11</i>	F: TGTGTGGGGTCTCTGCTACTA R: GCAGGGCGTATTATGAGGAG
<i>BNIP3L</i>	F: CATCCTCATCCTCCATCCAC R: GATCTGCCCATCTTCTTGTG
<i>LPCAT3</i>	F: CAGGGAGAGCTGATTGCACATAC R: TGTGTAGCCACTAGGTAGAA
<i>TFRC</i>	F: AGCCAGATCAGCATTTCTTAACCT R: GCCTTTCATGTTATTGTGGGCAT
<i>GAPDH</i>	F: CCTCGTCCCGTAGACAAAATG R: TGAGGTCAATGAAGGGGTCGT

## 2.11 统计学分析

采用 GraphPad Prism 9.0 软件进行统计分析，多组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA)，2 组间比较采用 Student's *t* 检验。数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。

## 3 结果

### 3.1 PVENs 的提取、表征及奥利司他装载

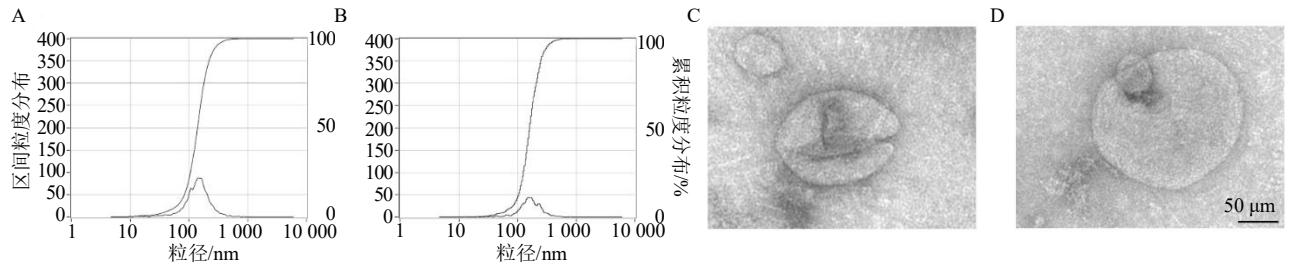
采用超速离心法成功从夏枯草水提物中分离

出 PVENs。TEM 结果 (图 1-C) 显示, PVENs 呈典型的杯状或球形双层膜结构, 形态完整。NTA 结果 (图 1-A) 表明, 超高速离心法提取的 PVENs 粒径为  $(154.1 \pm 76.2)$  nm, 粒径占比为 100.0%。装载奥利司他后, 所得 PVENs-Orl 的粒径与 PVENs 相比形态结构未发生显著变化, 但具备更大的粒径 (图 1-B、D), 表明其生物学特性仍得到保留。

### 3.2 HepG2 细胞摄取 PVENs 结果

为验证 PVENs 及其载药体系能否作为有效的药物递送载体被靶细胞摄取, 采用绿色荧光探针

DiO 分别对 PVENs 与 PVENs-Orl 进行膜标记。将等量的 DiO-PVENs 与 DiO-PVENs-Orl 分别与 HepG2 细胞共孵育后, 通过共聚焦显微镜观察。如图 2 所示, 与对照组相比, DiO-PVENs 组和 DiO-PVENs-Orl 组细胞质内均出现了显著的绿色荧光信号。表明奥利司他的装载并未改变 PVENs 本身被 HepG2 细胞内化的能力, 无论是 PVENs 还是 PVENs-Orl 均能有效地被 HepG2 细胞摄取, 为其作为靶向递送系统并发挥后续生物学功能提供了直接证据。



A-NTA 鉴定 PVENs 粒径; B-NTA 鉴定 PVENs-Orl 粒径; C-TEM 观察 PVENs 形态 ( $\times 200\ 000$ ); D-TEM 观察 PVENs-Orl 形态 ( $\times 200\ 000$ ).  
A-NTA identification of PVENs particle size; B-NTA identification of PVENs-Orl particle size; C-morphology of PVENs observed by TEM ( $\times 200\ 000$ ); D-morphology of PVENs-Orl observed by TEM ( $\times 200\ 000$ ).

图 1 PVENs 提取及奥利司他装载鉴定  
Fig. 1 PVENs extraction and orlistat loading identification

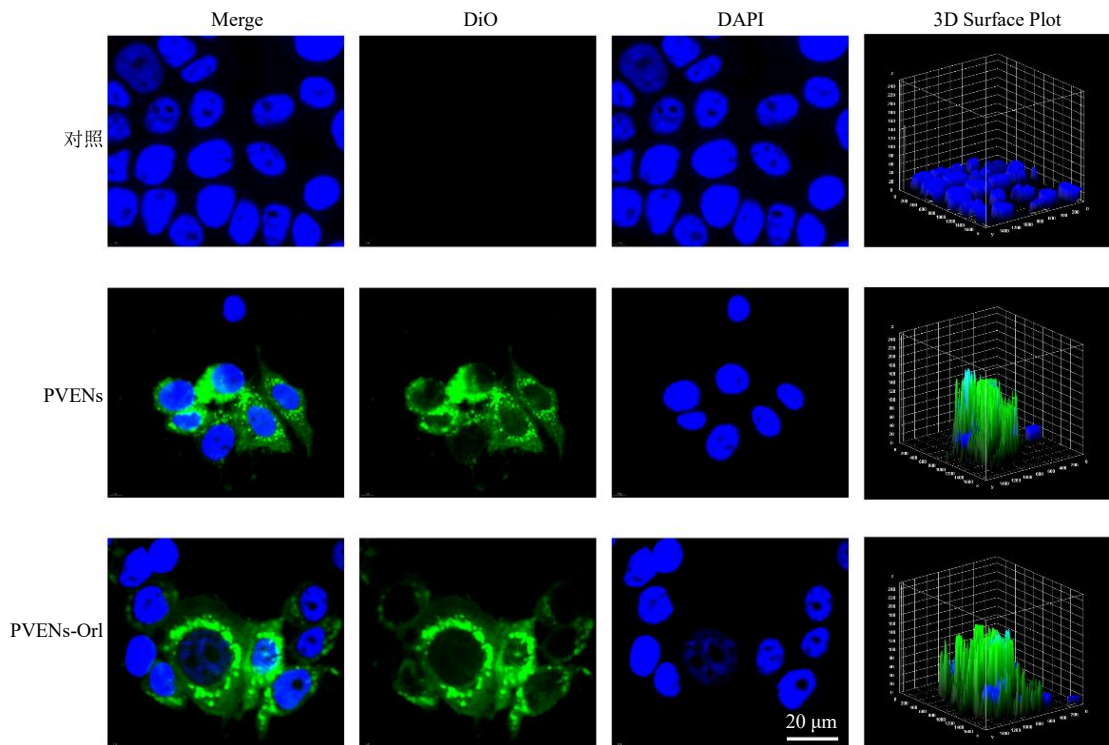


图 2 HepG2 细胞摄取 PVENs 荧光图 ( $\times 400$ )  
Fig. 2 Fluorescence map of PVENs uptake by HepG2 cells ( $\times 400$ )

### 3.3 PVENs-Orl 抑制 HepG2 细胞增殖

如图 3 所示, PVENs 和 PVENs-Orl 均能够抑制 HepG2 细胞增殖, 且呈剂量和时间相关性。对相同质量浓度、相同干预时间下 PVENs 组与 PVENs-Orl 组的细胞活性进行组间比较, 结果显示, 干预 24、48、72 h, PVENs-Orl (10、20、30  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 组的细胞活性均显著低于 PVENs 组 ( $P < 0.05, 0.01$ )。PVENs 干预 HepG2 细胞 24、48、72 h 的  $\text{IC}_{50}$  分别为 25.0、23.0、10.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , PVENs-Orl 干预 HepG2 细胞 24、48、72 h 的  $\text{IC}_{50}$  分别为 22.0、13.0、4.0

$\mu\text{g}/\text{mL}$ 。根据 48 h 的  $\text{IC}_{50}$  值, 设置  $1/2 \text{IC}_{50}$ 、 $\text{IC}_{50}$ 、 $2 \text{IC}_{50}$  用于后续实验。细胞增殖、迁移及侵袭实验均采用等效药物浓度配对设计, PVENs-Orl (10、20、30  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 为外泌体联合等量奥利司他, 与 PVENs (20、30、40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 为等效暴露剂量, 故进行组间比较。如图 4 所示, 与对照组比较, PVENs (30、40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 组及 PVENs-Orl (10、20、30  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 组和索拉非尼组细胞集落大小、数量均显著减少 ( $P < 0.001$ ), 且 PVENs-Orl 组的细胞集落大小、数量明显小于 PVENs 组 ( $P < 0.001$ )。

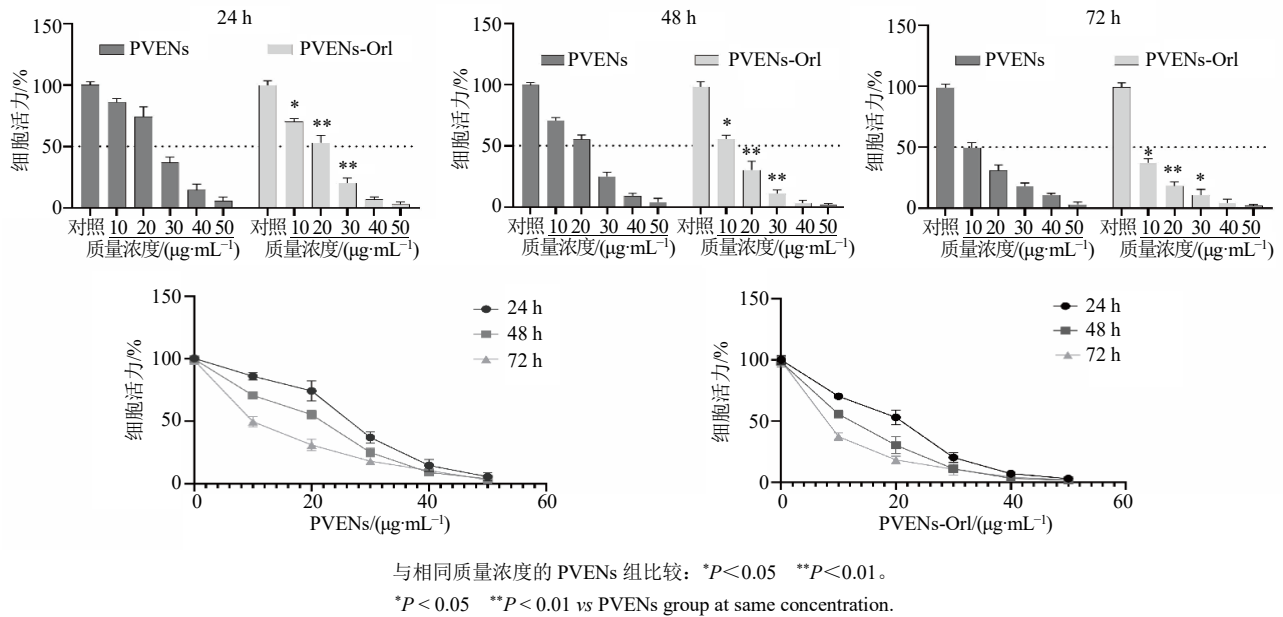
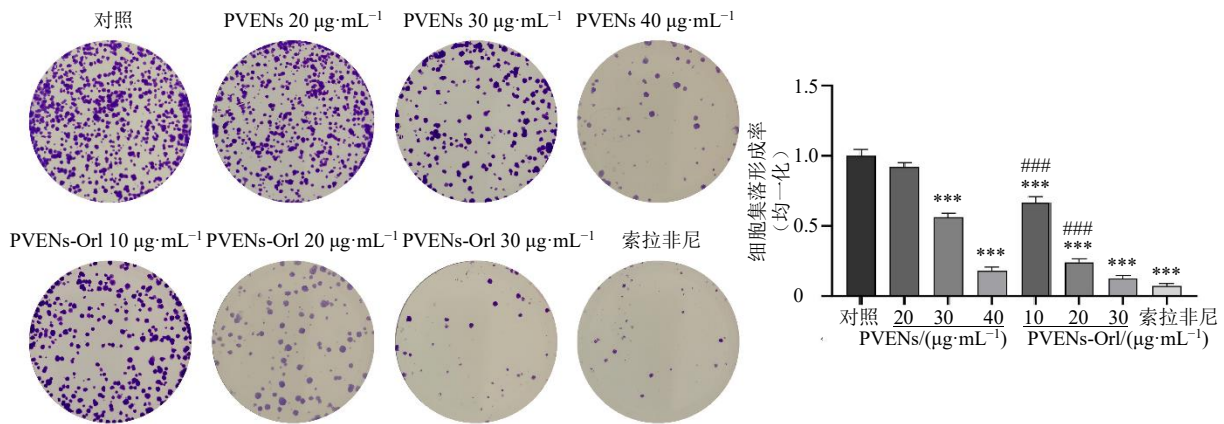


图 3 PVENs 和 PVENs-Orl 对 HepG2 细胞活力的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 3 Effects of PVENs and PVENs-Orl on viability of HepG2 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )



与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$ ; 与等效剂量的 PVENs 组比较: # $P < 0.05$  ### $P < 0.01$  #### $P < 0.001$ , 下同。  
\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs control group; # $P < 0.05$  ### $P < 0.01$  #### $P < 0.001$  vs PVENs group at equivalent dose, same as below figures.

图 4 PVENs 和 PVENs-Orl 对 HepG2 细胞集落形成的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 4 Effects of PVENs and PVENs-Orl on colony formation of HepG2 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

### 3.4 PVENs-Orl 对 HepG2 细胞迁移和侵袭的影响

如图 5 所示, 与对照组比较, PVENs (30、40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 组及 PVENs-Orl (10、20、30  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 组和索拉非尼组细胞划痕愈合率均显著降低 ( $P < 0.001$ ); 且等效剂量条件下, PVENs-Orl 组的细胞划痕愈合率明显低于 PVENs 组 ( $P < 0.05$ 、0.01), 提示 PVENs-Orl 对 HepG2 细胞迁移能力的抑制作用强于 PVENs。Transwell 实验进一步验证了上述

结果, 如图 6 所示, 对照组细胞穿膜率较高, 而 PVENs (30、40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 组及 PVENs-Orl (10、20、30  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 组和索拉非尼组细胞 Transwell 穿膜率均显著降低 ( $P < 0.001$ ); 其中 PVENs-Orl 组的细胞穿膜率显著低于 PVENs 组 ( $P < 0.01$ 、0.001)。以上结果表明, PVENs 可抑制 HepG2 细胞的迁移与侵袭能力, 而装载奥利司他后的 PVENs 对 HepG2 细胞迁移、侵袭的抑制作用进一步增强。

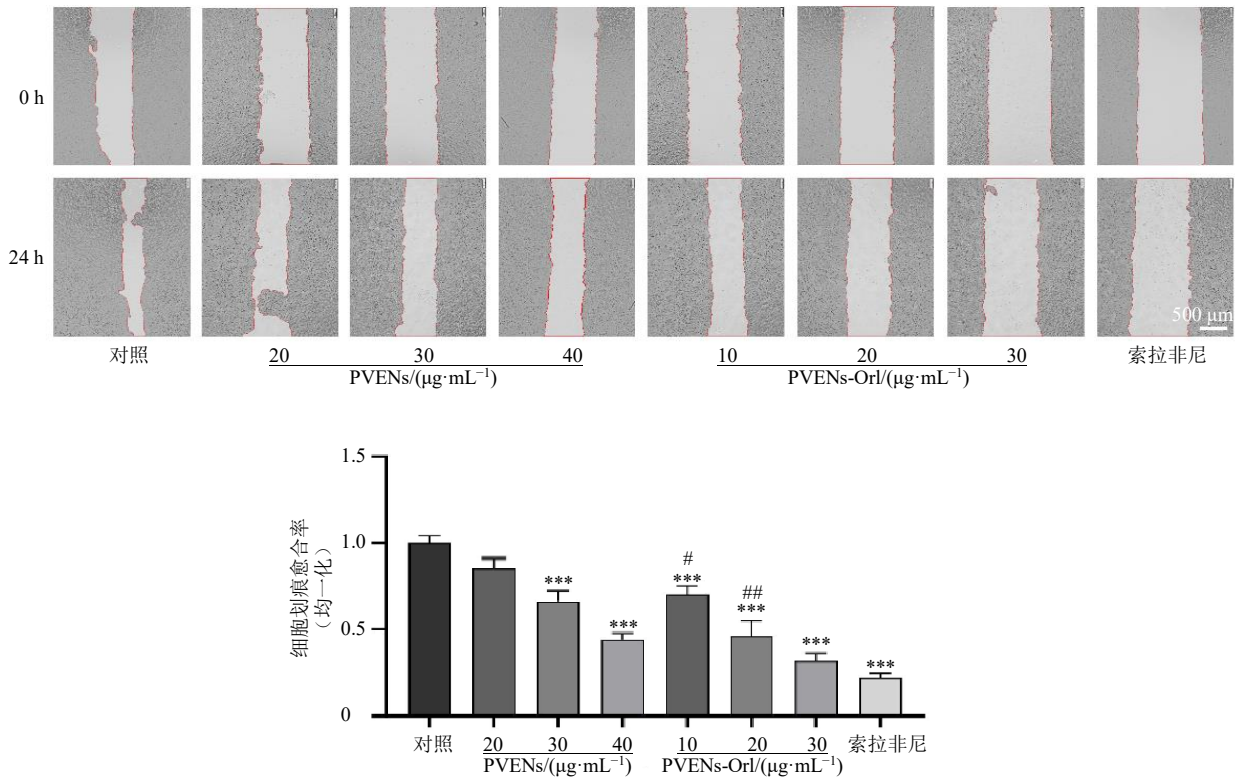


图 5 PVENs 和 PVENs-Orl 对 HepG2 细胞迁移能力的影响 ( $\times 40$ ;  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Fig. 5 Effects of PVENs and PVENs-Orl on migration ability of HepG2 cells ( $\times 40$ ;  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

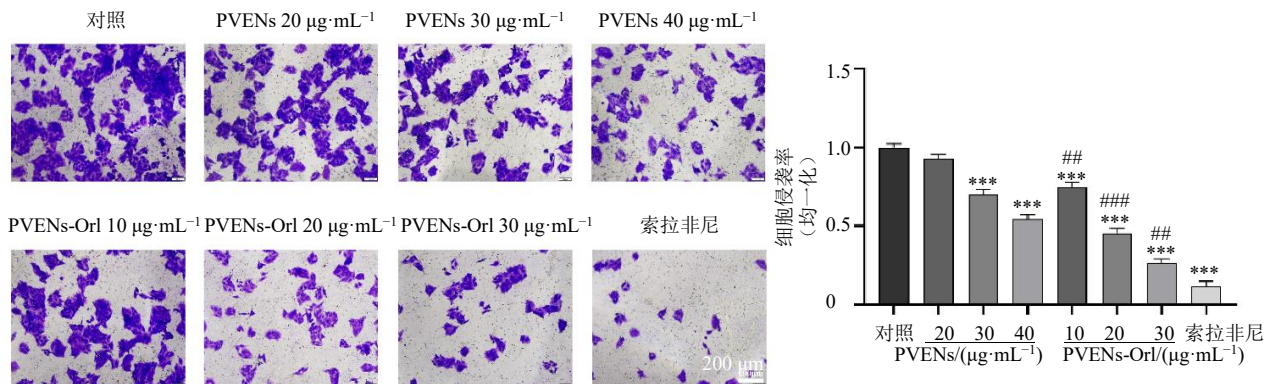


图 6 PVENs 和 PVENs-Orl 对 HepG2 细胞侵袭能力的影响 ( $\times 100$ ;  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Fig. 6 Effects of PVENs and PVENs-Orl on invasion ability of HepG2 cells ( $\times 100$ ;  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

### 3.5 PVENs-Orl 调控 HepG2 细胞的脂代谢表型

为探究 PVENs-Orl 抑制 HepG2 细胞生长的作用机制是否与调控脂代谢相关, 检测了 FFA 摄取、FASN 活性及 TG 含量等关键脂代谢指标。如图 7 所示, 与对照组比较, PVENs 组、PVENs-Orl 组及索拉非尼组 FASN 水平均显著降低 ( $P < 0.01$ ), 而脂质代谢中间产物 FFA 及终产物 TG 的水平则明显升高 ( $P < 0.05$ 、0.01、0.001)。其中 PVENs-Orl 组

的调控效应较 PVENs 组更为显著 ( $P < 0.05$ ), 提示 PVENs 装载奥利司他可通过抑制脂质合成关键酶 FASN 的表达、促进脂质代谢产物 FFA 与 TG 的积累, 实现对 HepG2 细胞脂代谢过程的重编程。

### 3.6 PVENs-Orl 干预 HepG2 细胞脂质过氧化

采用 DCFH-DA 荧光探针检测细胞内 ROS 水平, 结果如图 8-A、B 所示, 与对照组比较, PVENs 组、PVENs-Orl 组及铁死亡诱导剂 RSL3 组细胞内

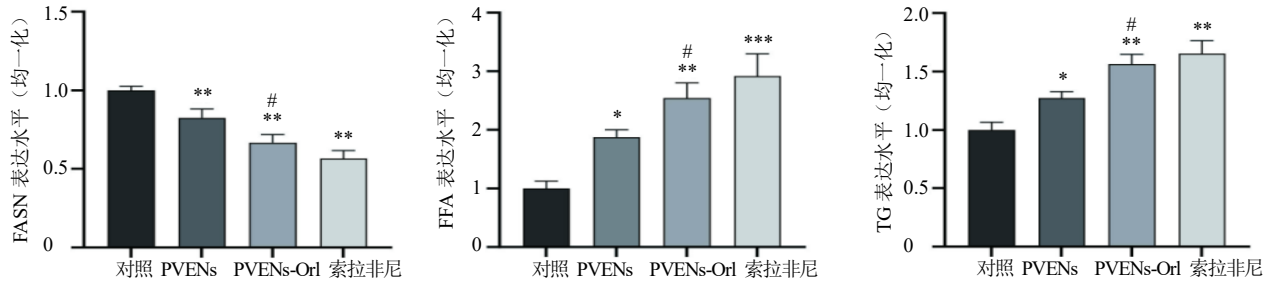
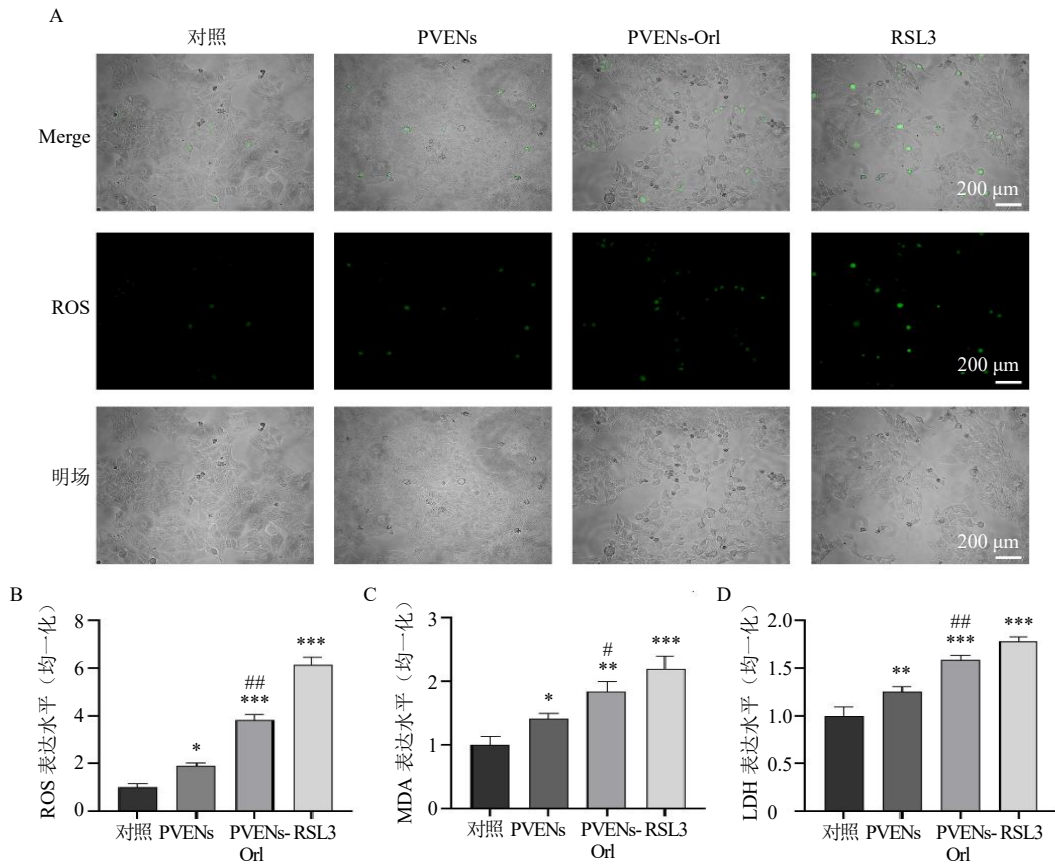


图 7 PVENs 和 PVENs-Orl 对 HepG2 细胞脂质代谢相关指标的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 7 Effects of PVENs and PVENs-Orl on lipid metabolism-related indicators of HepG2 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )



A、B-免疫荧光检测细胞内 ROS 水平 ( $\times 200$ ); C-细胞内 MDA 水平; D-细胞上清液中 LDH 水平。

A, B-intracellular ROS level detected by immunofluorescence ( $\times 200$ ); C-intracellular MDA level; D-LDH level in cell supernatant.

图 8 PVENs 和 PVENs-Orl 对 HepG2 细胞氧化应激相关指标的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 8 Effects of PVENs and PVENs-Orl on oxidative stress-related indicators of HepG2 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

ROS 水平均显著升高 ( $P < 0.05$ 、 $0.001$ )。如图 8-C、D 所示,与对照组比较,PVENs 组、PVENs-Or1 组及 RSL3 组细胞内 MDA 和上清液中 LDH 水平均显著升高 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ 、 $0.001$ )。且 PVENs-Or1 组的调控效应较 PVENs 组更为显著 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ),表明 PVENs-Or1 引发了 HepG2 细胞严重的氧化应激,导致细胞膜完整性受损。

### 3.7 PVENs-Or1 干预 HepG2 细胞脂质过氧化与线粒体相关

鉴于线粒体是细胞代谢和 ROS 产生的核心细胞器,而脂质过氧化与线粒体功能障碍存在紧密的相互调控关系,进一步检测了线粒体功能。JC-1 染

色结果 (图 9) 显示,与对照组比较,PVENs 组、PVENs-Or1 组及 RSL3 组红色荧光 (JC-1 聚合物,代表正常高膜电位) 强度显著减弱,绿色荧光 (JC-1 单体,代表去极化低膜电位) 强度增强,且 JC-1 聚合物相对值显著下降 ( $P < 0.01$ ),表明线粒体膜电位降低,而线粒体膜电位的下降会进一步促进 ROS 的产生与累积,加剧脂质过氧化进程。Mito-Tracker Green 染色结果 (图 10) 进一步证实,与对照组比较,PVENs 组、PVENs-Or1 组及 RSL3 组线粒体荧光强度显著降低 ( $P < 0.01$ 、 $0.001$ ),提示线粒体膜电位下降、功能受损。以上结果表明,PVENs-Or1 能有效诱导 HepG2 细胞线粒体功能障碍。

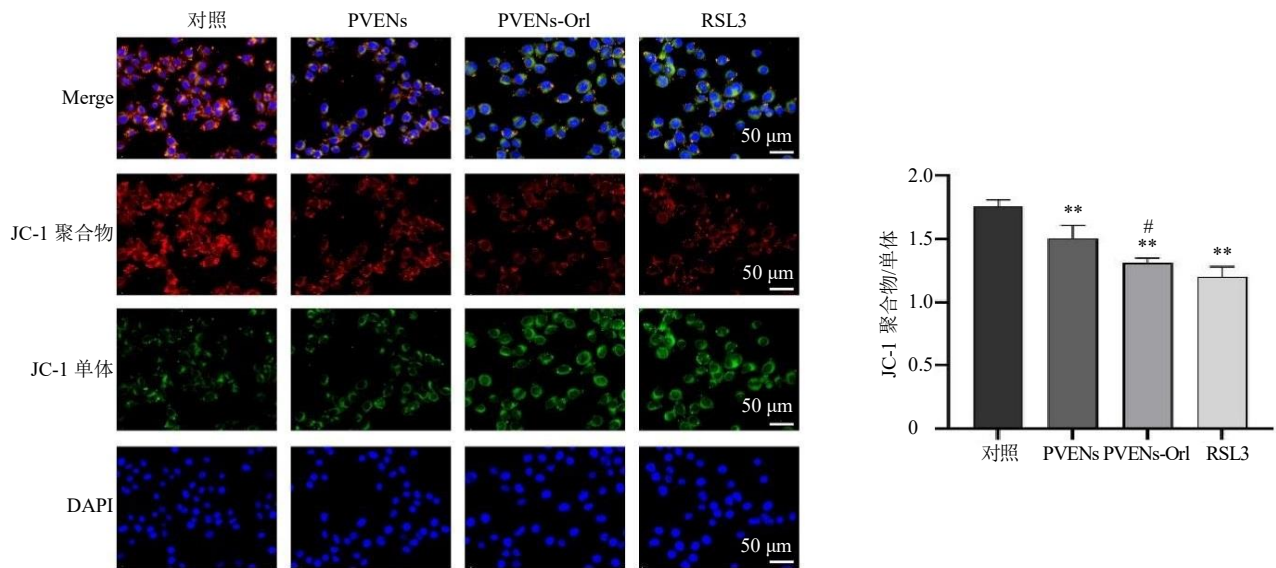


图 9 JC-1 染色检测 PVENs 和 PVENs-Or1 对 HepG2 细胞线粒体膜电位的影响 ( $\times 400$ ;  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Fig. 9 Effects of PVENs and PVENs-Or1 on mitochondrial membrane potential of HepG2 cells detected by JC-1 staining ( $\times 400$ ;  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

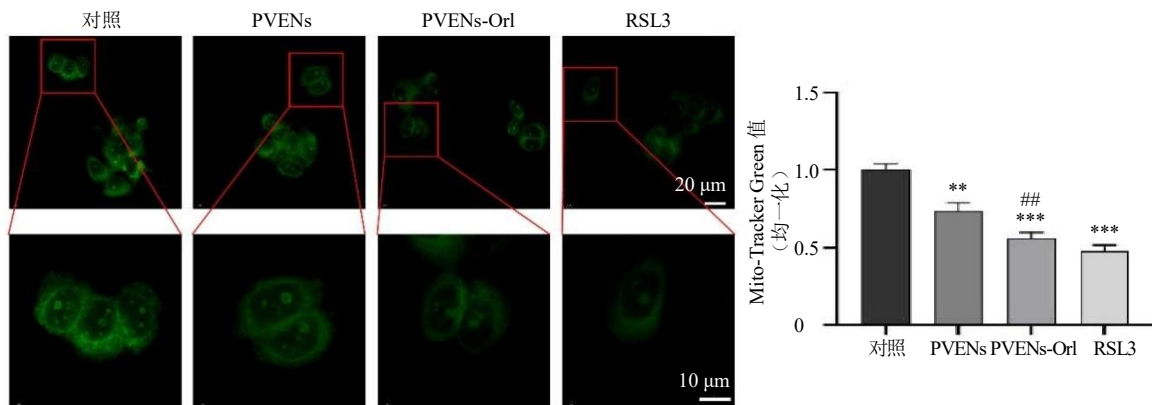


图 10 Mito-Tracker Green 染色检测 PVENs 和 PVENs-Or1 对 HepG2 细胞线粒体结构的影响 ( $\times 400$ ;  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Fig. 10 Effects of PVENs and PVENs-Or1 on mitochondrial structure of HepG2 cells detected by Mito-Tracker Green staining ( $\times 400$ ;  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

### 3.8 PVENs-Or1 对 HepG2 细胞脂代谢与铁死亡相关基因表达的影响

为进一步阐明 PVENs-Or1 调控 HepG2 细胞脂代谢的分子机制,采用 qRT-PCR 检测了铁死亡及脂代谢相关基因表达。如图 11 所示,与对照组比较, PVENs 组、PVENs-Or1 组及 RSL3 组脂质过氧化及铁死亡促进相关基因 (*ACSL4*、*BNIP3L*、*LPCAT3*、

*TFRC*) 表达水平均显著升高 ( $P < 0.01$ 、 $0.001$ ),抗氧化及铁死亡抑制相关基因 (*GPX4*、*SLC7A11*) 表达水平均显著降低 ( $P < 0.01$ 、 $0.001$ ),且 PVENs-Or1 组的调控效应更接近铁死亡诱导剂 RSL3 组。以上结果表明, PVENs-Or1 可通过上调促脂质过氧化/铁死亡基因、下调抗铁死亡基因的表达,调控脂代谢与铁死亡的协同通路,进而抑制 HepG2 细胞生长。

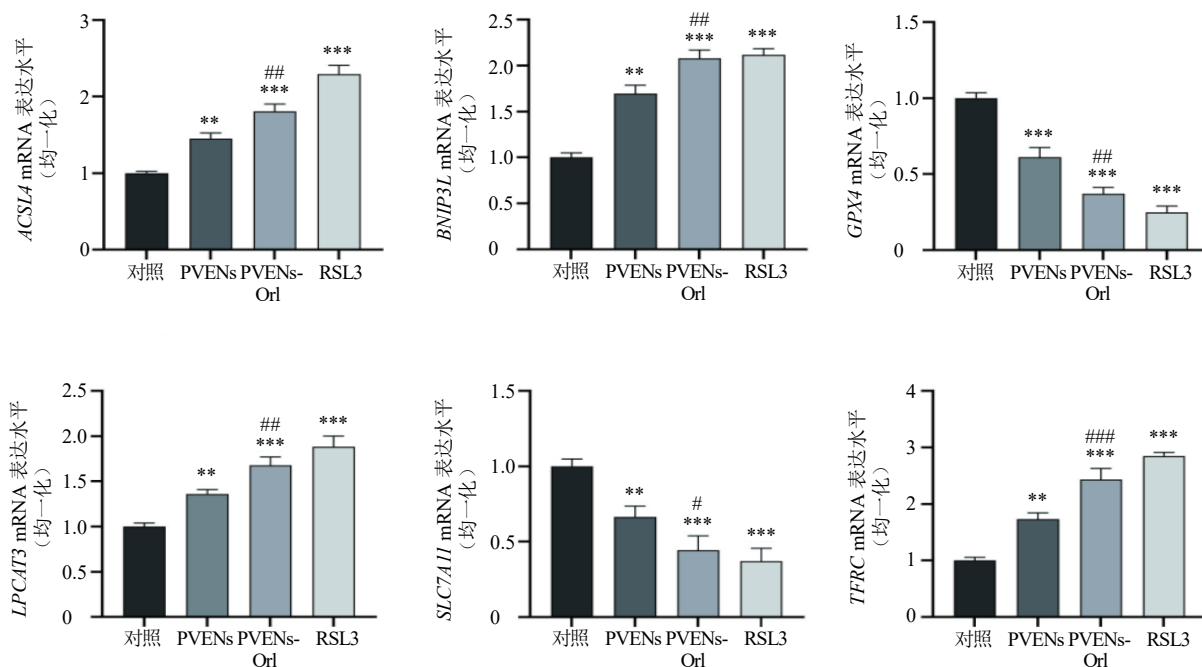


图 11 PVENs 和 PVENs-Or1 对 HepG2 细胞脂代谢与铁死亡相关基因表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 11 Effects of PVENs and PVENs-Or1 on expressions of lipid metabolism and ferroptosis-related genes in HepG2 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

## 4 讨论

肝癌作为一种代谢异常高度活跃的恶性肿瘤,其发生发展与脂质代谢重编程密切相关,这使得靶向脂代谢通路成为极具潜力的治疗策略<sup>[17-19]</sup>。本研究成功构建了基于 PVENs 的奥利司他递送系统,并证实其可通过有效干扰 HepG2 细胞的脂代谢稳态,诱导脂质过氧化及线粒体功能障碍,进而抑制 HepG2 细胞的增殖、克隆形成、迁移与侵袭能力。

本研究采用超速离心法成功从夏枯草中提取出 PVENs,其形态与粒径分布符合典型外泌体特征。装载奥利司他后, PVENs-Or1 仍能维持其结构完整性并被 HepG2 细胞高效内化,这表明奥利司他的装载并未影响 PVENs 作为天然纳米载体的基本生物学特性。与合成纳米载体相比,植物外泌体具有生物相容性好、免疫原性低、来源广泛且成本低廉等独特优势<sup>[15,20]</sup>。本研究首次将 PVENs 应用于递

送 FASN 抑制剂奥利司他,不仅为改善奥利司他水溶性差、生物利用度低等临床应用瓶颈提供了新思路,同时 PVENs 本身可能继承了夏枯草的抗肿瘤活性,与奥利司他形成“载体与药物协同增效”的治疗效应。索拉非尼是肝癌一线靶向药物,除经典的抗血管生成作用外,近年研究证实其亦可诱导肿瘤细胞发生氧化应激和铁死亡<sup>[21-22]</sup>。这一发现为索拉非尼与 PVENs-Or1 的平行比较提供了理论依据——二者在诱导脂质过氧化及铁死亡等效应层面具有交汇点。因此,本研究选择索拉非尼作为阳性对照,旨在从整体抗肿瘤效应层面评估 PVENs-Or1 的抑瘤强度。结果表明, PVENs-Or1 表现出与索拉非尼相似的抑瘤效果,进一步凸显其抗肝癌潜力。

在生物学功能上, PVENs 本身对 HepG2 细胞的增殖、迁移与侵袭表现出一定的抑制作用,这可能是由于夏枯草本身含有的抗肿瘤活性成分通过

外泌体这一载体得以保留并发挥作用<sup>[23]</sup>。然而,更为重要的是, PVENs-Orl 在所有功能学实验中均展现出显著强于 PVENs 的抑制效果,这明确证实了 PVENs 作为药物载体成功地将奥利司他递送至肿瘤细胞内并增强了其疗效。CCK-8、克隆形成、划痕及 Transwell 实验一致表明, PVENs-Orl 呈剂量相关性抑制 HepG2 细胞的增殖、克隆形成、迁移与侵袭能力,且效果显著优于等效剂量的 PVENs,提示载药体系具备更强的抗肿瘤潜力。

机制层面,本研究首先聚焦于脂代谢表型的改变。奥利司他作为一种已知的 FASN 抑制剂,能够不可逆地结合 FASN 的活性中心,阻断内源性脂肪酸的合成<sup>[10,24]</sup>。本研究结果与此高度一致: PVENs-Orl 处理显著降低了 FASN 的活性,同时引起了细胞内 FFA 和 TG 的蓄积。这种脂代谢表型的改变即关键合成酶活性受抑与代谢中间产物堆积,提示肿瘤细胞的脂质稳态被彻底打破,无法满足其快速增殖所必需的能量和生物膜构建需求,从而最终导致细胞生长阻滞与死亡<sup>[25-26]</sup>。脂代谢紊乱往往伴随氧化应激的发生。研究发现, PVENs-Orl 能显著提升细胞内 ROS 和 MDA 水平,并促进 LDH 的释放。ROS 的过量累积可直接攻击生物膜中的多不饱和脂肪酸,引发脂质过氧化链式反应,MDA 作为脂质过氧化的终末产物,其水平升高进一步证实了氧化损伤的存在;而 LDH 释放增加则提示细胞膜完整性已受损<sup>[27-28]</sup>。这些结果共同指向了严重的氧化应激与脂质过氧化损伤。

值得注意的是,线粒体作为细胞内 ROS 生成的主要场所和脂质代谢的核心细胞器,既是脂质氧化的“肇事者”,也是其“受害者”<sup>[29-30]</sup>。为探究线粒体在 PVENs-Orl 诱导的氧化损伤中的作用,检测了线粒体功能。JC-1 染色结果显示, PVENs-Orl 处理导致线粒体膜电位显著下降, Mito-Tracker Green 染色进一步证实线粒体质量减少。TEM 可清晰呈现线粒体嵴断裂、空泡化等超微结构损伤,是验证线粒体功能障碍更直观的证据。后续研究将结合 TEM 观察,进一步从形态学角度验证 PVENs-Orl 对线粒体的损伤作用,以弥补当前研究的局限。线粒体功能障碍与脂质过氧化之间可形成恶性循环:一方面,线粒体是 ROS 的重要来源,其功能紊乱会加剧氧化应激;另一方面,脂质过氧化会损伤线粒体膜结构,进一步放大其功能障碍<sup>[31-32]</sup>。

近年来,脂质过氧化与线粒体功能障碍已被证

实是铁死亡的核心特征<sup>[33]</sup>。铁死亡是一种铁依赖性的、区别于凋亡的调节性细胞死亡方式,其特征即为脂质过氧化物的过度累积<sup>[34]</sup>。为明确 PVENs-Orl 是否通过诱导铁死亡发挥抑癌作用,进一步检测了铁死亡关键基因的表达。结果显示, PVENs-Orl 显著上调了促铁死亡基因 *ACSL4*、*LPCAT3*、*TFRC*、*BNIP3L* 的 mRNA 表达,同时下调了抗铁死亡基因 *GPX4* 和 *SLC7A11* 的表达。其中, *ACSL4* 和 *LPCAT3* 负责将多不饱和脂肪酸整合至细胞膜磷脂,增加脂质过氧化敏感性<sup>[35]</sup>; *TFRC* 介导铁离子摄取,为脂质过氧化反应提供必需的催化剂<sup>[36]</sup>; *BNIP3L* 则参与线粒体自噬调控,可能与线粒体质量下降有关<sup>[37]</sup>。而 *GPX4* 是细胞内最重要的脂质过氧化物修复酶,其活性依赖于 *SLC7A11* 介导的胱氨酸摄取所合成的谷胱甘肽<sup>[38]</sup>。这 2 个基因的表达受抑,意味着细胞清除脂质过氧化物的能力被严重削弱,从而诱导铁死亡的发生。PVENs-Orl 引起的基因表达谱与经典铁死亡诱导剂 RSL3 的效果相似,提示诱导铁死亡是 PVENs-Orl 抑制肝癌生长的重要分子机制之一。本研究仅在 mRNA 水平检测了铁死亡相关基因的表达变化,未在蛋白水平进行验证,这是本研究的不足之处。后续研究将通过 Western blotting 进一步验证 *ACSL4*、*GPX4* 等关键基因的蛋白表达变化,以更全面揭示 PVENs-Orl 调控铁死亡的分子机制。

本研究重点在于验证 PVENs 作为天然纳米载体对奥利司他的递送可行性,并探索 PVENs 本身是否继承夏枯草的抗肿瘤活性,因此实验分组主要围绕 PVENs 与 PVENs-Orl 展开。通过与 PVENs 组及阳性药物索拉非尼组的比较,已能初步证实 PVENs-Orl 的协同增效作用。然而,确证 PVENs 作为递送系统的优势,仍需与游离奥利司他进行直接比较。后续研究将进一步优化实验设计,增设游离奥利司他组,通过比较细胞摄取效率、胞内药物累积量及抗肿瘤活性,全面评估 PVENs 递送系统对奥利司他生物利用度的改善作用。

综上,本研究构建了 PVENs-Orl 新型纳米递送系统,并从“表型-代谢-功能-分子”多个层面系统揭示了其抗肝癌作用及机制。结果表明, PVENs-Orl 通过抑制 FASN 活性打破脂质代谢平衡,诱导线粒体功能障碍和脂质过氧化,并通过调控 *ACSL4*/*GPX4* 等关键基因的表达谱,协同诱导铁死亡的发生,最终有效抑制肝癌细胞的恶性进展。这不仅为

基于天然外泌体的药物递送系统开发提供了新的实验证据,也深化了对脂代谢调控在肝癌治疗中作用的认识,为肝癌的代谢靶向治疗提供了新的策略思路和理论依据。未来的研究将在动物模型上进一步验证 PVENs-Orl 的体内抗肿瘤效果及生物安全性,同时增设游离奥利司他对照组,系统比较 PVENs 递送系统对药物生物利用度的改善作用,并探索其与其他治疗手段的联合应用潜力。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Kew M C. Hepatocellular carcinoma: Epidemiology and risk factors [J]. *J Hepatocell Carcinoma*, 2014, 1: 115-125.
- [2] Cheng Z J, Yang P H, Qu S P, *et al.* Risk factors and management for early and late intrahepatic recurrence of solitary hepatocellular carcinoma after curative resection [J]. *HPB*, 2015, 17(5): 422-427.
- [3] Chen R, Cheng Q, Owusu-Ansah K G, *et al.* Cabazitaxel, a novel chemotherapeutic alternative for drug-resistant hepatocellular carcinoma [J]. *Am J Cancer Res*, 2018, 8(7): 1297-1306.
- [4] Feng J, Bin J L, Liao X W, *et al.* The prognostic role of ACSL4 in postoperative adjuvant TACE-treated HCC: Implications for therapeutic response and mechanistic insights [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2024, 43(1): 306.
- [5] 曹媛媛, 刘珂如, 陈蕾. 肿瘤微环境异常脂质代谢对免疫系统影响的研究进展 [J]. *中国医药导报*, 2025, 22(17): 105-110.
- [6] Hao Q W, Li T, Zhang X, *et al.* Expression and roles of fatty acid synthase in hepatocellular carcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2014, 32(6): 2471-2476.
- [7] Cui M, Xiao Z L, Wang Y, *et al.* Long noncoding RNA HULC modulates abnormal lipid metabolism in hepatoma cells through an miR-9-mediated RXRA signaling pathway [J]. *Cancer Res*, 2015, 75(5): 846-857.
- [8] Wang H C, Zhou Y, Xu H W, *et al.* Therapeutic efficacy of FASN inhibition in preclinical models of HCC [J]. *Hepatology*, 2022, 76(4): 951-966.
- [9] Liang J N, Liao J Y, Chang R Z, *et al.* Riplet promotes lipid metabolism changes associated with CD8 T cell exhaustion and anti-PD-1 resistance in hepatocellular carcinoma [J]. *Sci Immunol*, 2025, 10(108): eado3485.
- [10] 段伟静, 吕冬菊, 赵兴敏, 等. 降脂药奥利司他通过靶向脂代谢途径对肝细胞癌细胞 HepG2 增殖和凋亡的影响 [J]. *河北医科大学学报*, 2024, 45(3): 260-270.
- [11] Xu G X, Zhao Z Y, Wysham W Z, *et al.* Orlistat exerts anti-obesity and anti-tumorigenic effects in a transgenic mouse model of endometrial cancer [J]. *Front Oncol*, 2023, 13: 1219923.
- [12] Alsunbul M, El-Masry T A, El Zahaby E I, *et al.* Potential protective effect of orlistat: A formulation of nanocrystals targeting inflammation, oxidative stress, and apoptosis in an experimental model of doxorubicin-induced cardiotoxicity [J]. *Pharmaceutics*, 2024, 16(11): 1356.
- [13] Salomon C, Das S, Erdbrügger U, *et al.* Extracellular vesicles and their emerging roles as cellular messengers in endocrinology: An endocrine society scientific statement [J]. *Endocr Rev*, 2022, 43(3): 441-468.
- [14] 王智槟, 杨仁义, 张婧婷, 等. 石见穿外泌体通过诱导肝癌细胞铁死亡及凋亡抑制肿瘤生长 [J]. *中草药*, 2024, 55(19): 6622-6635.
- [15] Langellotto M D, Rassa G, Serri C, *et al.* Plant-derived extracellular vesicles: A synergetic combination of a drug delivery system and a source of natural bioactive compounds [J]. *Drug Deliv Transl Res*, 2025, 15(3): 831-845.
- [16] 李梦琦, 石玉, 杨诗宇, 等. 夏枯草抗肿瘤活性成分及其作用机制研究进展 [J]. *中国现代应用药学*, 2024, 41(5): 716-726.
- [17] 李飞燕, 王明刚, 毛德文, 等. 脂代谢重编程与原发肝癌发生发展的关系 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2024, 40(8): 1688-1692.
- [18] Cao L Q, Xie Y H, Fleishman J S, *et al.* Hepatocellular carcinoma and lipid metabolism: Novel targets and therapeutic strategies [J]. *Cancer Lett*, 2024, 597: 217061.
- [19] Zhou Y, Wang Z, Ren S, *et al.* Mechanism of action of protopanaxadiol ginsenosides on hepatocellular carcinoma and network pharmacological analysis [J]. *Chin Herb Med*, 2024, 16(4): 548-557.
- [20] Zhao B, Lin H J, Jiang X C, *et al.* Exosome-like nanoparticles derived from fruits, vegetables, and herbs: Innovative strategies of therapeutic and drug delivery [J]. *Theranostics*, 2024, 14(12): 4598-4621.
- [21] Zhang L, Li X M, Shi X H, *et al.* Sorafenib triggers ferroptosis via inhibition of HBXIP/SCD axis in hepatocellular carcinoma [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2023, 44(3): 622-634.
- [22] Zheng J S, Sato M, Mishima E, *et al.* Sorafenib fails to trigger ferroptosis across a wide range of cancer cell lines [J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12: 698.
- [23] Li C, Huang Q, Xiao J, *et al.* Preparation of *Prunella vulgaris* polysaccharide-zinc complex and its antiproliferative activity in HepG2 cells [J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 91: 671-679.
- [24] Pemble C W, Johnson L C, Kridel S J, *et al.* Crystal

- structure of the thioesterase domain of human fatty acid synthase inhibited by Orlistat [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2007, 14(8): 704-709.
- [25] Che L, Chi W N, Qiao Y, *et al.* Cholesterol biosynthesis supports the growth of hepatocarcinoma lesions depleted of fatty acid synthase in mice and humans [J]. *Gut*, 2020, 69(1): 177-186.
- [26] Cheng C, Hu J, Mannan R, *et al.* Targeting PIKfyve-driven lipid metabolism in pancreatic cancer [J]. *Nature*, 2025, 642(8068): 776-784.
- [27] Juan C A, Pérez de la Lastra J M, Plou F J, *et al.* The chemistry of reactive oxygen species (ROS) revisited: Outlining their role in biological macromolecules (DNA, lipids and proteins) and induced pathologies [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(9): 4642.
- [28] Ayala A, Muñoz M F, Argüelles S. Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 2014(1): 360438.
- [29] James A M, Cochemé H M, Murphy M P. Mitochondria-targeted redox probes as tools in the study of oxidative damage and ageing [J]. *Mech Ageing Dev*, 2005, 126(9): 982-986.
- [30] Mello T, Materozzi M, Galli A. PPARs and mitochondrial metabolism: From NAFLD to HCC [J]. *PPAR Res*, 2016, 2016(1): 7403230.
- [31] Ademowo O S, Dias H K I, Burton D G A, *et al.* Lipid (per) oxidation in mitochondria: An emerging target in the ageing process? [J]. *Biogerontology*, 2017, 18(6): 859-879.
- [32] Gao G, Shi Y, Deng H X, *et al.* Dysregulation of mitochondrial  $\alpha$ -ketoglutarate dehydrogenase leads to elevated lipid peroxidation in CHCHD2-linked Parkinson's disease models [J]. *Nat Commun*, 2025, 16: 1982.
- [33] Yan B, Ai Y W, Sun Q, *et al.* Membrane damage during ferroptosis is caused by oxidation of phospholipids catalyzed by the oxidoreductases POR and CYB5R1 [J]. *Mol Cell*, 2021, 81(2): 355-369.e10.
- [34] Dixon S J, Lemberg K M, Lamprecht M R, *et al.* Ferroptosis: An iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072.
- [35] Cui J T, Wang Y K, Tian X T, *et al.* LPCAT3 is transcriptionally regulated by YAP/ZEB/EP300 and collaborates with ACSL4 and YAP to determine ferroptosis sensitivity [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2023, 39(7/8/9): 491-511.
- [36] Ma H T, Huang Y T, Tian W R, *et al.* Endothelial transferrin receptor 1 contributes to thrombogenesis through cascade ferroptosis [J]. *Redox Biol*, 2024, 70: 103041.
- [37] Li Y, Zheng W Q, Lu Y Y, *et al.* BNIP3L/NIX-mediated mitophagy: Molecular mechanisms and implications for human disease [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13: 14.
- [38] Liu Y, Wan Y C, Jiang Y, *et al.* GPX4: The hub of lipid oxidation, ferroptosis, disease and treatment [J]. *Biochim Biophys Acta BBA Rev Cancer*, 2023, 1878(3): 188890.

[责任编辑 李亚楠]