



溶酶体稳态与肝癌化疗耐药： 靶向溶酶体的天然产物联合策略*

黄春萍¹⁾ 黎永卓¹⁾ 周 静^{1,2)**}

(¹⁾ 广西医科大学基础医学院生理学教研室, 南宁 530021; (²⁾ 广西高校区域性疾病预防控制重点实验室 (广西医科大学), 南宁 530021)

摘要 肝癌是世界上发病率较高的致死性恶性肿瘤之一, 在化疗、靶向治疗或经导管动脉化疗栓塞术 (transcatheter arterial chemoembolization, TACE) 之后容易出现复发以及产生耐药的情况, 这主要是因为肿瘤细胞对缺氧、营养不良及药物刺激具有很强的适应性。而近年来的研究显示, 溶酶体是细胞内的一个降解、物质循环、信号整合及死亡调控的重要细胞器, 对于肝癌治疗及耐药性的产生起着重要的作用。在药物的作用下, 肿瘤细胞一般通过加强溶酶体的酸化、增加溶酶体降解作用、维持细胞内的自噬通量、激活转录因子 EB/转录因子 E3 (transcription factor EB/transcription factor E3, TFEB/TFE3) 介导的溶酶体生物合成以及把药物摄取到溶酶体内隔离等方式维持细胞内环境平衡, 使进入肿瘤细胞的化疗药物剂量减少, 逃避化疗的伤害。而中草药单体具有结构多样性及多靶点调节的功能, 可以抑制溶酶体的酸化、阻断保护性的自噬、破坏溶酶体的膜完整性、调控铁死亡敏感性影响溶酶体生物合成等途径, 破坏肿瘤细胞对微环境应激的适应性, 并可联合索拉非尼、阿霉素等药物发挥抗肿瘤的作用。本文以肝癌微环境中的溶酶体稳态为核心, 总结了以溶酶体为靶点的天然产物联合化疗药物治疗肝癌的作用机理、增敏措施及转化难题等内容, 以期逆转肝癌耐药及优化个体化联合治疗方案提供新的方法和思路。

关键词 溶酶体, 肝癌, 化疗耐药, 天然产物, 联合策略

中图分类号 R735.7, R730.58, R979.1

DOI: 10.3724/j.pibb.2026.0126

CSTR: 32369.14.pibb.20260126

肝癌是全球范围内导致死亡的主要健康负担之一, 其发病率和病死率长期处于较高水平^[1]。由于早期症状隐匿, 大部分患者确诊时已处于中晚期, 失去手术切除、肝移植等根治性治疗的机会。即便进行经导管动脉化疗栓塞术 (transcatheter arterial chemoembolization, TACE)、消融或全身化疗等姑息性治疗手段^[2-4], 患者的总体预后也不理想, 其中复发与耐药是影响预后的重要因素^[5-6]。从临床与病理特征来看, 肝癌细胞具有高度的异质性^[7], 肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 又具独特性: 一方面, 肿瘤细胞生长过快, 导致血供不足, 形成缺氧和营养缺乏的微环境; 另一方面, 临床上经常使用的 TACE 等局部治疗手段, 虽能可以使肿瘤组织血供暂时中断, 但是也给局部造成了急性应激损伤^[8]。这种微环境自身缺陷加上治疗干预所带来的双重压力, 造成了肝癌区别于其他实体瘤的显著特点。在此情况下, 肝癌细

胞必须启动较强的适应性应激反应才能得以存活, 从而导致了耐药表型的出现及免疫逃逸的发生^[9-11]。

在细胞适应不利环境的调节网络中, 溶酶体是重要的调节枢纽之一^[12-13]。溶酶体是分解代谢的最终场所也是多条代谢与生长信号的关键整合平台; 在缺氧或者缺乏营养物质的情况下, 肝癌细胞依赖溶酶体介导的自噬流清除毒性成分并且再利用营养物质维持自身的能量供给^[14]。而且溶酶体表面的哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物 1 (mammalian target of rapamycin complex1, mTORC1) 信号与细胞核内的转录因子 (transcription factor, TF) EB 通路共同协作, 保证

* 国家自然科学基金 (U22A20374) 资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 0771-5358212, E-mail: gardenia_zhou@hotmail.com

收稿日期: 2026-03-12, 接受日期: 2026-06-24

细胞正常生长的同时调节细胞内合成代谢与分解代谢的关系^[15]。对于应对治疗相关的应激反应而言,某些抗肿瘤药物可以发生溶酶体隔离现象而减少药物有效胞质浓度并导致耐药表型的出现^[16]。溶酶体还可通过溶酶体膜通透化(lysosomal membrane permeabilization, LMP)调控细胞命运,在应激的情况下可能会参与凋亡的早期调控过程^[17]。另外一些溶酶体相关蛋白酶(如组织蛋白酶S)可以促进肿瘤生长相关的基质降解及血管生成过程,还可以参与抗原加工与呈递等免疫过程,说明溶酶体状态可能与血管生成及免疫调节有很大的联系^[18]。

肝癌细胞生存的独特微环境——其特征为低氧、营养物质缺乏及反复经受如TACE等治疗引发的急性应激——对其溶酶体系统形成了强大的选择性压力。这种压力驱使肿瘤细胞通过增加溶酶体生物发生、提高酸化降解能力以及增强对药物的隔离作用,从而建立较强的应激适应能力和耐药性^[19]。鉴于溶酶体参与代谢供给、信号整合、药物隔离以及细胞命运决定等重要生理过程^[20],单靶点阻断剂一般无法抵御肿瘤异质性以及微环境压力产生的多途径补偿机制,临床上所需的是多靶点联合的治疗方案^[21],溶酶体靶向联合传统的一线化疗方案,在增强治疗效果的同时可减少肿瘤复发转移和耐药性的问题^[22],在个体化联合用药方案设计当中确定新的治疗靶点。

在此基础上,中草药单体因其结构多样性以及药理活性的多靶点特质,呈现出多维度的药理特征和应用价值。它们不仅可以调控溶酶体膜稳定性与酸化程度,还可以广泛影响免疫调节、代谢调控、细胞死亡信号转导通路等,为解决现有药物所存在的耐药性问题提供了充足的化学空间以及作用机制^[23]。为此本文选择肝癌独特的代谢与治疗微环境为切入点,来探讨溶酶体在该背景下如何介导化疗耐药,主要阐述靶向溶酶体功能(如酸化、生物发生、膜通透性)的天然产物联合用药的增敏策略与研究进展,以期为基于溶酶体靶向治疗的肝癌个体化治疗新方案开发提供理论依据。

1 肝癌微环境的溶酶体——从基础功能到应激适应

溶酶体是由Christian de Duve于1955年首次发现并命名的单层膜包被的囊状结构、内含多种酸性水解酶类的囊泡状细胞器^[24]。虽然曾经简单地认

为它是细胞内的垃圾处理厂,但是最新的研究发现,溶酶体的稳态并不是一个简单的生物学过程,而是一个包括生物合成、功能执行以及转运的复杂调节过程,其分子基础是腔内酸性微环境的平衡、水解酶的正确折叠和激活、膜结构的完整性以及自噬流的协同^[25]。在肝癌的病理生理背景下,这种多层面的稳态调控体系有利于肿瘤细胞在血管生成异常所引起的严重缺氧以及营养不均衡等情况下保持稳定,从而增加它们的生存能力。因此,溶酶体对于维持肝癌细胞的代谢调控能力以及应对不利微环境的能力起到很大的作用^[26-27],而这种溶酶体过度依赖的特点也为治疗干预提供了可能的靶点,即一旦稳态网络的任何一个环节被打破,肿瘤细胞将会因为不能维持代谢平衡和应激耐受而迅速瓦解。在肝癌缺氧、营养匮乏及治疗相关应激持续存在的背景下,溶酶体功能并非局限于基础降解,而是沿着物质回收、应激损伤响应、适应性扩容和代谢信号整合的方向逐步发展。

1.1 溶酶体酸化与降解能力

溶酶体内腔维持低pH是其降解功能的前提,主要依赖于液泡型H⁺-ATP酶(vacuolar-type H⁺-ATPase, V-ATPase)^[28]。V-ATPase是一个大分子的多亚基复合物,利用腺苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)水解产生的化学能把质子运输到内腔,保持腔内pH值维持在4.5至5.0之间,构成溶酶体酶促反应及生理功能的基础。一方面,腔内60余种酸性水解酶只有在酸性条件下才能保持结构稳定并拥有最佳活性,而升高pH会导致酶活下降与底物堆积;另一方面,酸性环境有利于底物蛋白质的变性与解折叠,使得水解部位暴露从而增加蛋白酶的水解效果^[25]。再者,内吞体-溶酶体途径的酸化过程还涉及到铁的代谢及脂质分选等过程,使铁从转铁蛋白复合物中释放出来,并完成其价态转化以及跨膜转运的过程^[29]。所以说V-ATPase既能够维持跨膜质子梯度又可以使细胞内的消化、物质循环利用的过程顺利进行。

肝癌组织由于生长速度快以及多次进行TACE治疗导致长期处于缺氧、酸性以及营养匮乏的微环境中。这种环境需要大量的溶酶体进行代谢废物的处理以及营养物质的循环利用来维持生存。溶酶体的高度活跃是肝癌细胞在此环境中“与生俱来”的生存优势。在肝癌发生发展以及治疗过程中肿瘤细胞不断受到代谢压力和药物刺激,往往伴随着

V-ATPase 亚基的增多来提高其酸化的能力^[30]。特别是在索拉非尼的治疗过程中, 肿瘤细胞通过提高自身的自噬水平来抵抗能量危机^[31], 而溶酶体酸化与降解能力可高效降解废物并获得营养物质进行新的物质合成以实现能量的供给平衡。因此, 溶酶体酸化与终末降解是肝癌细胞对缺氧和营养缺乏的第一防线, 也是接下来的自噬机制清除应激损伤的基础前提。

1.2 自噬-溶酶体轴与溶酶体自噬

在酸化和终末降解功能的基础上, 自噬-溶酶体轴进一步将溶酶体的物质回收功能扩展为应激条件下的质量控制系统。自噬-溶酶体轴是肝癌细胞应对营养缺乏、缺氧和治疗压力的重要稳态维持系统。经典巨自噬过程中, 细胞质蛋白、受损线粒体和错误折叠蛋白被双层膜结构形成自噬体, 随后, 自噬体与溶酶体溶合形成自噬溶酶体, 底物在酸性水解酶作用下被降解, 降解产物再被回收用于能量代谢和生物合成^[32]。因此, 溶酶体不仅是自噬过程的终末降解场所, 也是维持自噬流完整性的关键环节。若溶酶体酸化、融合或水解酶活性受损, 即使自噬体形成增加, 也可导致自噬流阻断和底物堆积。除作为自噬降解终点外, 溶酶体也可通过选择性自噬被清除, 即溶酶体自噬^[33]。在肝癌细胞中, 溶酶体自噬既可作为保护性质量控制机制, 清除受损溶酶体并维持治疗应激下的细胞存活; 但当溶酶体损伤超过修复和清除能力时, 该机制可能失效, 并促进细胞转向不可逆死亡。由此可见, 自噬-溶酶体轴不仅延续了溶酶体的基础降解功能, 也使其进一步参与治疗压力下的应激清除和底物回收, 为肿瘤细胞维持存活提供了重要缓冲机制。

1.3 溶酶体膜通透性与细胞死亡

当肝癌细胞长期处于氧化应激、脂质过氧化及药物刺激下时, 溶酶体就不只是简单地承担降解和清除任务, 溶酶体膜本身也是应激损伤的重要靶点。溶酶体膜是酸性水解酶与细胞质之间的一道屏障, 它的通透性改变也是决定细胞生死的关键事件^[34]。相对于细胞膜来说, 在脂质成分以及氧化应激环境的影响下, 溶酶体膜更加容易被氧化发生脂质过氧化损伤, 所以对于氧化应激就更加敏感。在肝癌病变环境下, 溶酶体膜的通透性改变主要是由于活性氧类 (reactive oxygen species, ROS) 过多、脂质过氧化及铁代谢紊乱造成的。溶酶体内大量活跃的三价铁离子, 氧化应激引起的芬顿反应会

产生大量的羟自由基, 引发链式过氧化反应, 导致细胞膜破裂^[35]。同时某些药物或者代谢物的堆积也会使两亲性分子导致膜的扰动, 从而破坏膜稳定性^[36]。发生 LMP 之后, 组织蛋白酶 B/D 等进入胞质, 在肿瘤细胞的酸性条件下也可以启动凋亡程序, 通过切割 Bid 生成 tBid 促使线粒体的外膜破裂、释放出细胞色素 c 从而触发内源性凋亡途径^[37]。溶酶体的损伤也会参与到铁依赖性脂质过氧化相关的细胞死亡过程中, 比如, 溶酶体内铁平衡失调及相关蛋白酶被激活就会引起铁死亡^[38-39]。而且 LMP 的程度决定了细胞的生死存亡, 轻度的损伤会被细胞修复系统所限制, 严重 LMP 会使大量的蛋白酶被释放出来、ATP 耗竭, 导致坏死性凋亡或者其他的溶酶体相关细胞死亡方式。因此, LMP 使得溶酶体从应激清除的细胞器变成了死亡信号扩大的上游环节, 是肝癌细胞长期受到药物刺激下作出生存决定的重要分子开关。

1.4 溶酶体损伤与修复

由于 LMP 的生物学结局并不完全取决于膜损伤是否发生, 而更取决于损伤程度与细胞修复能力之间的平衡, 因此有必要进一步讨论溶酶体损伤后的修复与质量控制过程。溶酶体稳态包括酸化、降解、生物发生, 以及损伤后的修复与更新。轻度或局部溶酶体膜损伤后, 细胞可启动膜修复以限制腔内水解酶外泄。其中, 内涵体运输复合体 (endosomal sorting complex required for transport, ESCRT) 可被快速募集至受损膜区域, 通过膜重塑和封闭损伤位点维持溶酶体完整性^[40]。若膜损伤范围较大或持续存在, 单纯膜修复不足以恢复稳态, 受损溶酶体则可进入溶酶体自噬途径。此时, 细胞可通过半乳糖凝集素识别暴露于胞质侧的溶酶体腔面糖链, 并募集泛素化系统、自噬受体和自噬体膜结构, 将受损溶酶体包裹并递送至功能完整的溶酶体中降解^[41]。在上述修复和清除之后, 细胞可通过 TFEB/TFE3 介导的溶酶体生物发生补充新的溶酶体, 恢复降解能力^[42-43]。因此, 溶酶体损伤后的细胞结局取决于损伤强度、修复能力和再生能力之间的平衡。轻度损伤多诱导 ESCRT 修复和溶酶体自噬, 并维持细胞存活; 而严重 LMP 则可导致大量组织蛋白酶、铁离子和水解酶释放, 触发线粒体凋亡、铁死亡或溶酶体依赖性细胞死亡 (lysosome-dependent cell death, LD CD)。溶酶体损伤修复既是肿瘤细胞抵御治疗压力的保护机制,

也是限制 LMP 诱导型治疗效应的重要耐受屏障。如何突破这一修复阈值,可能是将可逆性溶酶体损伤转化为不可逆细胞死亡的关键。

1.5 TFEB与TFE3介导的溶酶体生物发生

当溶酶体长期处于高负荷降解、反复损伤和修复状态时,肿瘤细胞还可通过转录重编程扩大溶酶体数量和功能容量,从而形成更稳定的应激适应状态。溶酶体数量与功能容量受转录层面的精细调控,其中 TFEB 及其同源物 TFE3 是核心因子^[44]。正常情况下,TFEB/TFE3 多被 mTORC1 磷酸化并滞留于胞质,当细胞饥饿、溶酶体受损或药物刺激时,mTORC1 信号可被抑制,或钙调蛋白依赖性磷酸酶被激活,从而促进 TFEB 去磷酸化并转位入核,启动包括 V-ATPase、溶酶体相关膜蛋白 1 (lysosomal-associated membrane protein 1, LAMP1) 等溶酶体膜蛋白、溶酶体水解酶与自噬基因在内的表达,使溶酶体数量与降解能力同步提升^[45]。在肝癌中,靶向治疗、放化疗或蛋白质毒性应激可能诱导 TFEB/TFE3 通路的激活,该通路可被肿瘤细胞利用作为耐药机制,通过加快清除受损线粒体与错误折叠蛋白质,并回收代谢底物,从而维持细胞存活^[46]。因此,该反馈环路可作为联合治疗设计的重要机制依据。单纯增加溶酶体压力可能不足以诱导细胞死亡,反而可能促进细胞适应。更有效的策略是抑制 TFEB/TFE3 的核转位,或利用肿瘤细胞对溶酶体功能的依赖,促使代谢废物与受损组分持续累积,最终造成溶酶体负荷过度并引发功能失衡^[47]。TFEB/TFE3 介导的溶酶体生物发生是肝癌细胞从短期应激修复走向长期治疗耐受的重要转折点,也是溶酶体适应性扩容的核心机制。

1.6 溶酶体作为mTORC1与应激信号的调控枢纽

在完成物质回收、应激清除、损伤修复和适应性扩增之后,溶酶体还可以通过 mTORC1 整合营养状况、生长因子信号以及自噬过程的反馈信息来决定细胞在生长与分解代谢之间的转换。mTORC1 的激活主要在溶酶体膜上,Rag、Rheb 等小 GTP 蛋白将其招募到膜上并结合氨基酸以及生长因子信号^[48]。溶酶体内腔氨基酸含量的多少、酸碱度的高低、膜上蛋白复合体的状态都与 mTORC1 有关,这决定细胞是生长合成还是自噬分解^[49]。当溶酶体损伤或者营养不足时,mTORC1 抑制导致自噬增加以获得代谢底物^[50];相反,溶酶体负担减少

和氨基酸回流可以重新激活 mTORC1 促使细胞增殖^[51]。这种溶酶体与 mTORC1 相互联系的方式使肝癌细胞可以快速地适应缺氧、营养变化以及药物冲击等不利环境因素。溶酶体不仅提供物质回收、应激清除、损伤修复等功能,还通过 mTORC1-TFEB/TFE3 调节细胞的生长和分解代谢的动态平衡调控。

综上,在肝癌微环境中,溶酶体功能可沿着“基础降解功能-应激损伤响应-适应性扩容-代谢信号整合”的路径逐层展开。酸化和终末降解为肿瘤细胞提供物质回收基础;自噬-溶酶体轴进一步承担应激清除和底物回收功能;LMP、ESCRT 修复和溶酶体自噬共同决定损伤后细胞走向恢复还是死亡;TFEB/TFE3 介导的溶酶体生物发生扩大应激缓冲容量;而 mTORC1 则在溶酶体膜上整合营养与生长信号,决定细胞在分解代谢、合成代谢和治疗耐受之间的转换。正因如此,溶酶体在肝癌中逐渐由传统意义上的降解细胞器转变为应激适应、死亡决策和治疗耐受的调控枢纽,也为后续靶向溶酶体适应、逆转耐药和开展联合增敏治疗奠定了理论基础。

2 靶向溶酶体适应:天然产物联合化疗的增敏策略

2.1 肝癌微环境驱动的溶酶体适应性耐药表型

2.1.1 自噬通量的增强与代谢重塑

对于肝癌治疗,以索拉非尼为代表的靶向药物酪氨酸激酶抑制剂 (tyrosine kinase inhibitors, TKI) 通过抑制 RAF 激酶 (rapidly accelerated fibrosarcoma, RAF)、血管内皮生长因子受体 (vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)、血小板源性生长因子受体 (platelet-derived growth factor receptor, PDGFR) 等信号通路抑制肿瘤生长。但是 TKI 在发挥治疗作用的同时也会导致细胞压力反应,例如内质网应激、氧化应激与代谢应激等,进而使肿瘤细胞启动以自噬及溶酶体相关的途径来应对这些药物引起的应激反应并产生耐药性^[52-53]。因此,在不断刺激的情况下,自噬以及溶酶体途径是肿瘤细胞存活的基础也是联合增敏的重要靶点。在索拉非尼相关应激模型中,抗性及耐药细胞往往具有两类溶酶体相关表型。一是保护性自噬通量增强,利用溶酶体最终降解维持能

量供给及细胞内稳态。二是溶酶体对药物的隔离或滞留作用使得胞质有效暴露剂量降低从而促进了抗药性的形成。自噬溶酶体通路的瓶颈不在自噬体生成而是在于溶酶体对于底物的最终降解和清除能力。已有报道指出, 在肝癌细胞中抑制自噬可以显著加强索拉非尼对细胞的杀伤作用, 同时促使细胞死亡转变为不可逆的内质网应激介导的凋亡方式^[54]。因此, 靶向自噬晚期和溶酶体终末降解可为增敏治疗提供机制依据。

2.1.2 溶酶体嗜性、溶酶体扩增与药物隔离强化

溶酶体嗜性是指某些药物或小分子因理化性质而优先富集于溶酶体的现象, 常见于疏水性弱碱类分子。在中性或弱碱性胞质环境中, 这类分子多以未质子化形式存在, 脂溶性较强, 能够较容易穿过细胞膜和溶酶体膜进入溶酶体腔内; 而溶酶体腔内pH值较低, 弱碱分子进入后迅速质子化并带正电荷。带电后的分子脂溶性下降, 难以再次跨越溶酶体膜返回胞质, 从而在溶酶体内发生“离子陷阱”式富集^[55]。与此同时, 质子化后的药物还可能与溶酶体膜内侧带负电的酸性磷脂相互作用, 进一步促进膜内滞留和局部浓缩^[56]。

这一现象并非局限于少数经典溶酶体抑制剂。氯喹和羟氯喹等一类的溶酶体碱化剂本身具有明显溶酶体嗜性, 它们容易在溶酶体中富集、使溶酶体pH值升高, 影响自噬-溶酶体降解过程^[57]; 阿霉素、柔红霉素和米托蒽醌等也因类似理化性质而富集到溶酶体内, 减少了到达细胞核或者其他作用位点的药物剂量^[58]。随后的研究表明, 疏水弱碱性化疗药物的溶酶体隔离会导致TFEB相关的溶酶体生物发生, 增加溶酶体储药能力, “药物隔离-溶酶体扩增-进一步摄取”的恶性循环加剧了溶酶体相关的多药耐药性^[59]。同样, P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)等转运体也会导致药物进入溶酶体, 降低了其到达细胞核的剂量, 从而降低其造成DNA损伤的效应^[60]。但是在后续的研究中发现, 弱碱性药物的溶酶体富集不一定会导致明显的溶酶体碱化或溶酶体生物发生, 这和药物浓度、细胞周期以及细胞的种类等有关^[58]。

近年来的研究还发现多种TKI都受到溶酶体隔离的影响。Gotink等^[16]较早报道了舒尼替尼可定位于酸性溶酶体, 长期接触后耐药细胞中溶酶体表达及舒尼替尼溶酶体滞留增加, 即使细胞内总药物

浓度升高, 对下游的磷酸化Akt蛋白(phosphorylated Akt, p-Akt)以及磷酸化细胞外信号调节激酶(phosphorylated extracellular signal-regulated kinase, p-ERK)的抑制作用反而减弱, 说明溶酶体隔离使得药物的胞内可用剂量减少从而导致耐药的产生^[16]。Fu等^[61]利用无标记定量高光谱受激拉曼散射成像的方法对活细胞内伊马替尼和尼洛替尼的亚细胞定位进行观察, 发现二者均由于溶酶体嗜性而大量富集于溶酶体中, 并且氯喹处理能够降低伊马替尼的溶酶体隔离程度, 说明溶酶体隔离能够改变TKI的胞内分布并影响其有效作用浓度。这一研究提示在讨论索拉非尼等靶向药耐药时也应关注药物亚细胞定位变化带来的影响。

这种溶酶体隔离具有双重后果。一方面, 药物被困于溶酶体中, 导致有效胞质浓度降低并削弱靶点抑制^[62]; 另一方面, 药物长期滞留在体内也可能是一种压力因素, 造成溶酶体膜通透性、pH值变化以及mTORC1-TFEB信号转导变化, 导致溶酶体合成增加、溶酶体释放及进一步药物隔离, 形成耐药性适应。因此在肝癌耐药方面, 阻断药物外排、溶酶体隔离或者溶酶体释放环节, 都可以作为一种有效的逆转多药耐药的方法, 但是也需要针对不同的药物以及肿瘤的具体情况来决定。

2.1.3 TFEB/TFE3介导的转录重编程

在持续TKI或化疗压力下, TFEB/TFE3介导的转录重编程可进一步强化溶酶体适应。通过上调溶酶体膜蛋白、水解酶和自噬相关基因, TFEB/TFE3可以提高降解能力、扩大溶酶体储备, 并促进受损组分清除和药物压力缓冲^[63-64]。此外, 溶酶体损伤后的修复和质量控制过程也可能共同参与耐药适应。轻度损伤可经ESCRT介导的膜修复和溶酶体自噬被限制, 并通过TFEB/TFE3相关再生机制恢复稳态。在持续治疗压力下, 该过程可能缓冲LMP相关损伤, 延缓溶酶体依赖性细胞死亡, 从而促进肿瘤细胞应激耐受。基于此, 一种可行路径是限制TFEB轴以抑制溶酶体扩容, 从源头削弱耐药适应基础。

2.2 天然产物的增敏靶点与机制

天然产物可以通过多种途径靶向肝癌细胞的溶酶体适应过程, 包括酸化与降解、自噬流量、膜稳定性、铁代谢、溶酶体生物合成及酸敏感释放过程(表1)。

Table 1 Functional mechanisms, lysosome-related targets and core signaling pathways of natural products targeting lysosomal adaptation in liver cancer

表1 天然产物调控肝癌溶酶体适应的功能机制、分子靶点及核心信号通路

分类	天然产物或活性成分	溶酶体相关靶点	关键信号通路/分子轴	对溶酶体功能的影响	治疗效果	文献
酸化/自噬通量抑制	血根碱	V-ATPase、溶酶体酸化、组织蛋白酶成熟	溶酶体酸化障碍-线粒体损伤轴	破坏溶酶体酸性环境,影响蛋白酶成熟与活性,削弱末端降解	促进线粒体损伤和细胞死亡,增强肿瘤细胞对应激的脆弱性	[65]
酸化/自噬通量抑制	酵母 β -D-葡萄糖	自噬流、溶酶体功能	自噬-溶酶体通路	损害溶酶体降解功能并阻断自噬通量	抑制肝癌细胞生长,促进ROS累积和凋亡	[66]
酸化/自噬通量抑制	羟基红花黄色素A	自噬通量、溶酶体应激	自噬-溶酶体调控轴	干扰自噬底物清除并阻断自噬流	抑制恶性表型并促进细胞死亡	[67]
酸化/自噬通量抑制	二烯丙基硫化合物	溶酶体功能、自噬流	ROS/自噬-溶酶体相关通路	诱导溶酶体功能障碍和自噬阻断	抑制肝癌细胞增殖并促进死亡	[68]
酸化/自噬通量抑制	粉防己碱	TPC、溶酶体Ca ²⁺ 稳态、自噬流	TPC-溶酶体离子稳态-自噬轴	干扰溶酶体离子稳态并阻断自噬过程	增强索拉非尼诱导的细胞死亡	[69]
酸化/自噬通量抑制	黄芩素	保护性自噬、LC3/p62相关自噬流	自噬-凋亡交叉调控	抑制保护性自噬并削弱细胞应激清除能力	放大索拉非尼诱导的凋亡	[70]
生物发生/铁死亡调控	槲皮素	TFEB、铁蛋白降解、游离铁	TFEB-铁蛋白自噬-铁死亡轴	激活TFEB介导的溶酶体功能,促进铁蛋白降解和铁释放	增加游离铁和脂质过氧化,促进铁死亡	[71]
生物发生/铁死亡调控	雷公藤红素	TFEB、铁蛋白降解、ROS、脂质过氧化	TFEB-溶酶体铁释放-ROS/铁死亡轴	增强溶酶体对铁蛋白的降解及铁释放	诱导ROS依赖性铁死亡,增强抗肿瘤效应	[72]
生物发生/铁死亡调控	青蒿琥酯	组织蛋白酶、铁蛋白降解、铁释放	溶酶体铁释放-铁死亡轴	促进组织蛋白酶活化和铁蛋白降解,增加游离铁释放	与索拉非尼协同诱导铁死亡,增强肝癌抑制效果	[73]
生物发生/铁死亡调控	甘草酸	mTOR相关自噬/代谢适应节点、铁死亡相关事件	mTOR-自噬/代谢适应-铁死亡轴	间接影响自噬-溶酶体适应和代谢应激状态,增强铁死亡敏感性	诱导铁死亡并缓解索拉非尼耐药	[74]
LMP诱导	人参皂苷Rh2	ROS、溶酶体膜、线粒体	ROS-溶酶体-线粒体联轴	诱导溶酶体损伤和LMP	促进肝癌细胞死亡	[75]
LMP诱导	Rh2辛基酯	Bax、LMP、线粒体通路	Bax-LMP-线粒体凋亡轴	促进Bax向溶酶体转位并诱导LMP	放大死亡信号并促进凋亡	[76]
LMP诱导	重楼皂苷D	SMPD1/ASMase、肥大溶酶体、cathepsins	SMPD1/ASMase-LMP-LDCD轴	损伤肥大的溶酶体,降低索拉非尼在溶酶体中的滞留,并诱导LMP	促进索拉非尼向胞质再分布,逆转耐药并诱导LDCD	[77]
LMP诱导	维替泊芬	溶酶体pH、自噬通量、溶酶体膜	溶酶体酸化障碍-LMP-自噬阻断轴	升高溶酶体pH,损害酸化稳态,诱导膜通透化并阻断自噬通量	削弱溶酶体隔离相关耐受,增强索拉非尼抗肿瘤效应	[78]
DOX相关自噬增敏	人参皂苷Rg3	自噬通量、DOX应激相关自噬反应	自噬-溶酶体-DOX增敏轴	抑制DOX诱导的保护性自噬	增强DOX细胞毒性并降低耐受形成	[79]
DOX相关自噬增敏	异银杏素	自噬通量、溶酶体降解	自噬性细胞死亡通路	依赖溶酶体降解维持自噬流持续运行	与DOX协同诱导自噬性细胞死亡	[80]
DOX相关自噬增敏	淫羊藿苷	线粒体自噬、CRT、HMGB1	线粒体自噬-ICD轴	调节线粒体质量控制并影响免疫原性死亡相关事件	增强DOX杀伤并促进抗肿瘤免疫效应	[81]
酸性响应递送	姜黄素	内体-溶酶体酸性环境、胞内递送过程	pH响应递送/协同化疗轴	利用酸性环境促进共递送体系释药,提高药物暴露	增强DOX化疗效果	[82-83]
酸性响应递送	甘草酸/小檗碱共递送体系	内体-溶酶体途径、酸性触发释放	靶向脂质体-酸性释放轴	利用肿瘤细胞摄取和溶酶体酸性环境实现药物释放	改善肿瘤靶向递送并增强协同治疗效果	[84]

续表1

分类	天然产物或活性成分	溶酶体相关靶点	关键信号通路/分子轴	对溶酶体功能的影响	治疗效果	文献
酸性响应递送	白花丹素/ DOX共递送 体系	内体-溶酶体途径、 酸性环境释药	纳米共递送-协 同化疗轴	利用酸性环境触发药物释 放并提高胞内有效暴露	实现DOX与天然产物协同 增敏	[85]

V-ATPase: 液泡型H⁺-ATP酶 (vacuolar-type H⁺-ATPase); TPC: 双孔通道 (two-pore channel); LC3: 微管相关蛋白1轻链3 (microtubule-associated protein 1 light chain 3); p62: 泛素结合蛋白p62 (sequestosome-1); TFEB: 转录因子EB (transcription factor EB); mTOR, 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin); ROS: 活性氧类 (reactive oxygen species); Bax: Bcl-2相关X蛋白 (Bcl-2-associated X protein); SMPD1: 鞘磷脂磷酸二酯酶1 (sphingomyelin phosphodiesterase 1); ASMase: 酸性鞘磷脂酶 (acid sphingomyelinase); CRT: 钙网蛋白 (calreticulin); HMGB1: 高迁移率族蛋白B1 (high mobility group box 1); DOX: 阿霉素 (doxorubicin); LMP: 溶酶体膜通透化 (lysosomal membrane permeabilization); LDCD: 溶酶体依赖性细胞死亡 (lysosomal-dependent cell death); ICD: 免疫原性细胞死亡 (immunogenic cell death)。

2.2.1 抑制溶酶体酸化、终末降解与保护性自噬通量

抑制溶酶体酸化或降解功能, 是干预自噬降解阶段, 增敏索拉非尼治疗的重要策略之一^[54]。溶酶体酸化受损导致腔内pH升高, 组织蛋白酶等酸性水解酶活性下降, 自噬通量在末端环节受阻, 受损蛋白质和线粒体, 以及脂质过氧化产物更易堆积, 进而叠加内质网应激、ROS积累与DNA损伤信号, 促进死亡通路的激活与放大。因此通过削弱肿瘤细胞对持续性应激的清除与回收能力, 可放大索拉非尼诱导的细胞毒性。

羟氯喹 (hydroxychloroquine, HCQ) 是溶酶体酸化药物抑制剂的代表药物, 在索拉非尼耐药的细胞株中, HCQ通过抑制自噬流和增强氧化损伤来增加细胞对索拉非尼的敏感性, 该研究提出TLR9/SOD1/miR-30a-5p/Beclin-1信号通路可能是其作用机理之一^[86]。多种天然产物被报道可通过干预溶酶体功能与索拉非尼产生协同效应。血根碱可以破坏溶酶体酸性环境中的蛋白酶成熟及活性, 导致线粒体损伤进而引起细胞死亡^[65]; 酵母β-D-葡聚糖、羟基红花黄色素A、二烯丙基硫化物等天然成分可以通过破坏溶酶体功能、阻断自噬通量或者引起溶酶体相关应激从而抑制肝癌细胞生长并促进凋亡^[66-68]。另外一些天然活性单体亦被报道可在自噬溶酶体轴上实现靶向调控。粉防己碱是一种双孔通道蛋白拮抗剂, 通过改变溶酶体内的离子平衡来抑制自噬, 使索拉非尼引起的细胞死亡加剧^[69]; 黄芩素与索拉非尼联合使用, 可以抑制保护性自噬并促进细胞凋亡^[70]。综上所述, 通过破坏溶酶体介导的应激清除能力, 可使持续的药物压力累积为不可逆的细胞损伤与死亡。

值得注意的是, 天然产物对自噬-溶酶体轴的

影响并不能简单地归纳为“自噬增强”或者“自噬抑制”。例如, 微管相关蛋白1轻链3 (microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3)-II水平升高可以代表自噬体形成增加, 也可以说明自噬流在溶酶体降解环节停滞不前, 而p62/SQSTM1的不断累积则往往表示自噬底物降解不彻底。因此对于天然产物是否真的阻碍或者激活了自噬, 需要从LC3-II、p62、溶酶体pH值、组织蛋白酶活性以及自噬流的变化等方面来综合判断, 这对于了解天然产物联合索拉非尼或阿霉素 (doxorubicin, DOX) 的增敏作用机理具有重要意义。

2.2.2 调控溶酶体生物发生与铁死亡敏感性

在饥饿、氧化应激、溶酶体负担加重等情况下, TFEB/TFE3一般是核转位的活跃状态; 而在营养充足的时候则通常被mTORC1等途径磷酸化失活而滞留在细胞质内, 提示其在细胞抵抗压力环境及改变代谢状态时起到重要的作用。另外除了参与到细胞内清理、代谢调节的过程之中, TFEB还与铁稳态及铁死亡相关。溶酶体是铁蛋白经过选择性自噬途径被分解的主要场所, 而TFEB导致的溶酶体功能加强会导致铁蛋白被更快地分解并释放出更多的游离铁, 从而推动芬顿反应及脂质过氧化反应并诱发铁死亡。例如, 槲皮素可以使TFEB活化溶酶体并加速铁蛋白的分解, 提高游离铁水平从而引发铁死亡的发生^[71]。雷公藤红素在肝癌细胞中也能够激活TFEB、加强溶酶体对铁蛋白的分解以及铁的释放, 进而产生脂质过氧化及ROS依赖的铁死亡^[72]。除了TFEB介导的溶酶体生成以外, 直接靶向溶酶体铁的释放或者调节mTOR相关的代谢适应都可以增加肝癌细胞对铁死亡的敏感性。青蒿琥酯可以作用于溶酶体上, 促进组织蛋白酶活

化以及铁蛋白被快速降解,联合以抗血管生成作用为主的索拉非尼,引起铁死亡,增强肝癌抑制的效果^[73]。而与青蒿琥酯直接激活溶酶体的铁释放不同,甘草酸更多的是针对mTOR相关的途径来调控自噬、代谢应激以及铁死亡敏感性,导致铁死亡并降低细胞的耐药性^[74]。因此天然产物既可通过促进溶酶体铁蛋白的降解直接增加铁死亡的压力,也可以通过mTOR等代谢适应节点减少耐药细胞对药物刺激的耐受性。

因此,TFEB/TFE3、mTOR及溶酶体铁代谢调控相关途径均不是单纯的促生存或者促死亡途径,其生物学效应是基于细胞应激背景、溶酶体负载情况、铁代谢状况、联合用药情况等条件决定的。未来的临床应用方面应避免对某个途径直接进行“激活”或“抑制”,要根据治疗的阶段和治疗目的,区分其溶酶体适应作用及铁死亡增敏作用。

2.2.3 诱导溶酶体膜通透性

近年研究认为,溶酶体脂质过氧化可引发LMP,进而导致细胞死亡,在此过程中会使细胞获得内在免疫原性变化并提升抗肿瘤免疫效果^[87]。所以通过ROS介导、脂质过氧化或膜脂质稳态失衡导致不可逆的LMP有可能是解决凋亡抵抗的方法之一。人参皂苷Rh2可激活ROS介导的溶酶体、线粒体级联途径导致肝癌细胞死亡^[75],而其辛基酯Rh2-O可通过促进Bax转位造成LMP和放大细胞死亡信号^[76]。另一条更为直接的路径是将溶酶体扩增变成易损靶点。在索拉非尼耐药细胞里,溶酶体数量增多、体积增大和药物隔离能力增强本是维持耐药的基础。当耐药细胞依赖于溶酶体扩增、形态肥大来隔离药物和缓冲应激时,LMP诱导就会把这种防御机制变成死亡放大器,而且这种适应性越显著,膜损伤后内容物溢出就会造成更大的死亡信号增强和药物再分布^[17]。Wang等^[77]报道重楼皂苷D可以通过抑制鞘磷脂磷酸二酯酶1(sphingomyelin phosphodiesterase 1, SMPD1)/酸性鞘磷脂酶(acid sphingomyelinase, ASMAse)的活性破坏肥大溶酶体并降低溶酶体对索拉非尼的滞留,使其再分布到细胞质中,同时还可以借助内容物外泄推动LDCD并逆转耐药表型。这说明天然产物诱导LMP的增敏作用不仅仅是由于膜损伤本身造成的,而是取决于它是否能够打破耐药细胞的溶酶体质量控制阈值。对于依赖溶酶体扩增、药物隔离和应激缓冲维持生存的耐药细胞而言,一旦这道防线被攻破,原来起保护作用的溶酶体适应性就会

变成促进药物再分布和死亡信号放大的缺陷部分。所以打破“溶酶体修复—溶酶体自噬”防线可能是LMP介导的天然产物发挥增敏效应的重要前提。同样,维替泊芬在无光条件下可以富集在溶酶体当中并且导致溶酶体腔内pH值升高及膜通透性的改变,造成溶酶体酸化稳态被打破及自噬流被阻断,从而减轻溶酶体隔离相关耐受并增强索拉非尼抗肿瘤效应^[78]。

从机制上看,天然产物诱导LMP大致可分为两类。第一类是通过ROS或脂质过氧化破坏溶酶体稳定性,例如人参皂苷Rh2和Rh2-O等;第二类是影响脂代谢、酸性鞘磷脂酶或溶酶体pH稳态引起膜损伤,例如重楼皂苷D和维替泊芬等。两者均都会造成组织蛋白酶外流,但是其下游结局可能会因为LMP程度不同而出现差异。Repnik等^[88]指出,较轻或局部LMP更易与线粒体外膜通透化协同并促进凋亡,而较大范围的膜损伤则会导致坏死。因此,未来研究需要更多地关注不同天然产物诱导LMP的强度、时间窗口和细胞死亡类型之间的关系。

综上,天然产物可以通过抑制溶酶体酸化和终末降解、引起LMP以及调节TFEB相关的溶酶体生物发生和铁代谢等手段将肝癌细胞的溶酶体耐受转化为治疗脆弱性,主要作用方式如图1所示。

2.2.4 DNA损伤化疗应激下的自噬溶酶体靶向增敏

除TKI诱导的持续应激外,DNA损伤化疗药物也可导致肿瘤细胞激活自噬-溶酶体系统来修复损伤以获得耐药。以DOX为例,其可引起一系列广泛的DNA损伤反应,伴随的ROS积累以及内质网应激也会刺激自噬溶酶体清除作用增强,从而削弱疗效并且加快耐药形成。因此,在DOX应激下自噬晚期及溶酶体终末降解的能力也是联合增敏的重要目标。Kim等^[79]报道,人参皂苷Rg3可以抑制自噬通量并增强DOX对肝癌细胞的毒性作用,减少耐药产生,自噬受到抑制后,受损线粒体及蛋白质聚集物不能被有效清除,ROS以及脂质过氧化压力容易堆积从而诱发凋亡或坏死性死亡,从而提高DOX的作用效果。但是要注意的是,自噬溶酶体途径在不同的联合情况下可以是保护性的清除体系被抑制,也可以是高应激高负载的情况下导致死亡的过程。Wang等^[80]研究异银杏素与DOX协同共递送可以诱导自噬性细胞死亡,这依赖于溶酶体降解能力来保持通量不断循环。此外,线粒体自

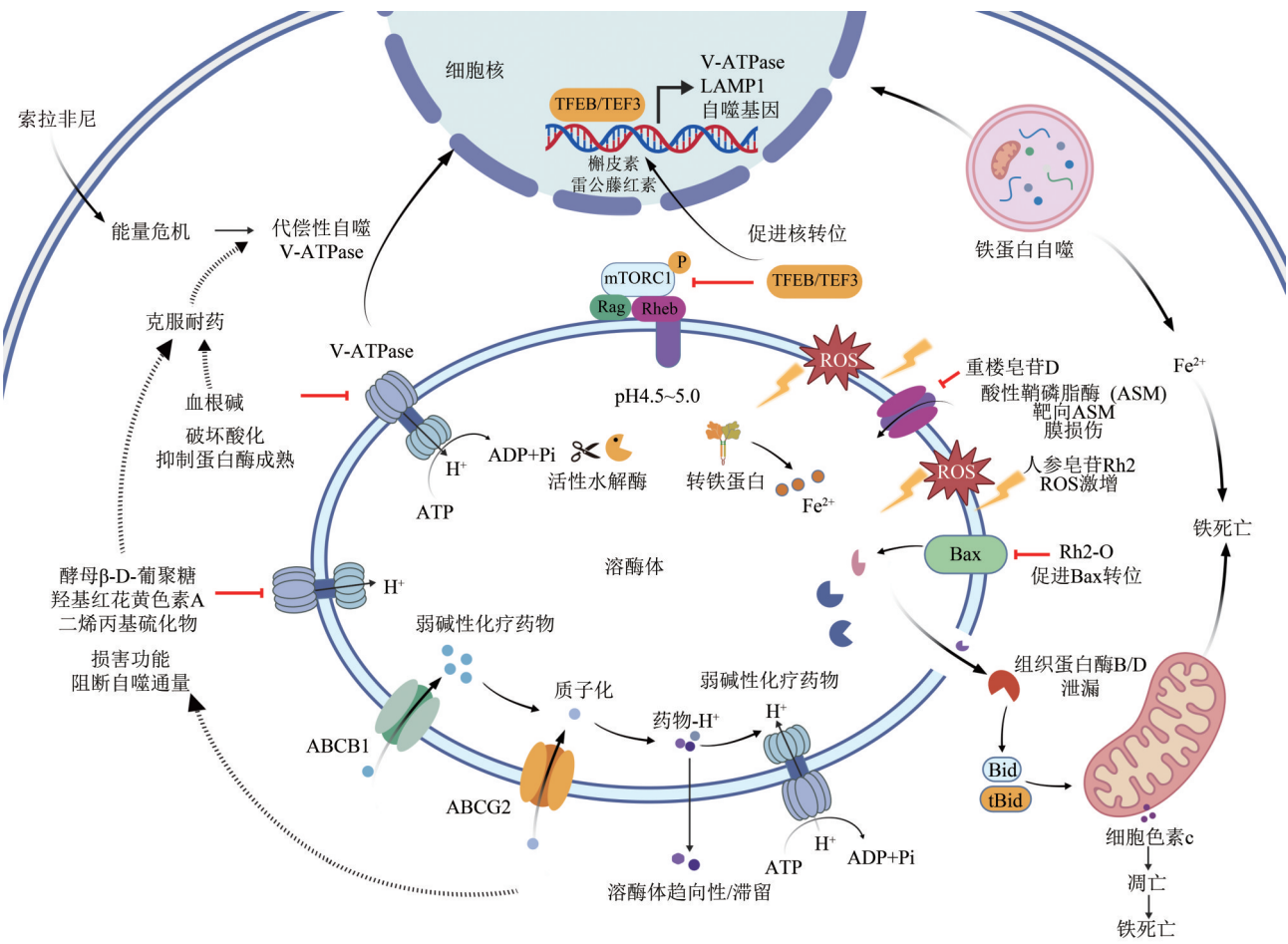


Fig. 1 Schematic illustration of lysosome-centered therapeutic strategies
图1 以溶酶体为中心的治疗策略示意图

天然产物可通过抑制溶酶体酸化与终末降解、诱导LMP及调控TFEB轴破坏肿瘤细胞稳态, 并通过削弱弱碱性药物的溶酶体隔离增强治疗敏感性。V-ATPase: 液泡型H⁺-ATP酶 (vacuolar-type H⁺-ATPase); LAMP1: 溶酶体相关膜蛋白1 (lysosome-associated membrane protein 1); TFEB: 转录因子EB (transcription factor EB); TFE3: 转录因子E3 (transcription factor E3); mTORC1: 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物1 (mammalian target of rapamycin complex 1); Rag: Ras相关GTP结合蛋白 (Ras-related GTP-binding protein); Rheb: 脑组织富集Ras同源蛋白 (Ras homolog enriched in brain); ROS: 活性氧类 (reactive oxygen species); ASM: 酸性鞘磷脂酶 (acid sphingomyelinase); ABCB1: ATP结合盒亚家族B成员1 (ATP-binding cassette subfamily B member 1); ABCG2: ATP结合盒亚家族G成员2 (ATP-binding cassette subfamily G member 2); Bax: Bcl-2相关X蛋白 (Bcl-2-associated X protein); Bid: BH3相互作用结构域死亡激动剂 (BH3-interacting domain death agonist); tBid: 截短型Bid (truncated Bid); ATP: 三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate); ADP: 二磷酸腺苷 (adenosine diphosphate); Pi: 无机磷酸盐 (inorganic phosphate); H⁺: 质子 (proton); Fe²⁺: 亚铁离子 (ferrous ion)。由BioGDP.com创作^[89]。

噬是一个很重要的分支点, 它可以与免疫原性细胞死亡 (immunogenic cell death, ICD) 相关联。Yu等^[81]报道, 淫羊藿苷联合DOX可以促进线粒体自噬而增加ICD, 在提高肿瘤细胞杀伤能力的同时提高机体免疫能力。所以说自噬通量的抑制与维持会产生不同的结果, 取决于应激强度、底物积累和溶酶体降解能力之间的关系。这个结果也说明自噬-溶酶体轴并不是一成不变的促存活或促死亡的通路。当自噬主要起着清除受损细胞器及代谢补偿的作用时, 抑制溶酶体终末降解能够增强DOX的细胞毒性作用; 而当细胞处于高度应激以及持续被

激活状态下, 保持或加快自噬流也可能会诱发自噬性细胞死亡。因此, 在今后设计DOX与天然产物联合用药方案时, 需要先了解自噬流的情况, 溶酶体降解能力以及细胞死亡的类型等具体情况, 而不是简单地将自噬视为单一治疗靶点。

综合来看, 天然产物及其递送体系可从自噬通量、溶酶体酸化与离子稳态、膜通透化、铁死亡、酸性响应释药以及DOX相关免疫原性死亡等多个层面协同干预耐药过程, 整体机制见图2。

2.3 多维度靶向策略的协同潜力

肝癌治疗相关应激下的自噬与溶酶体适应并非

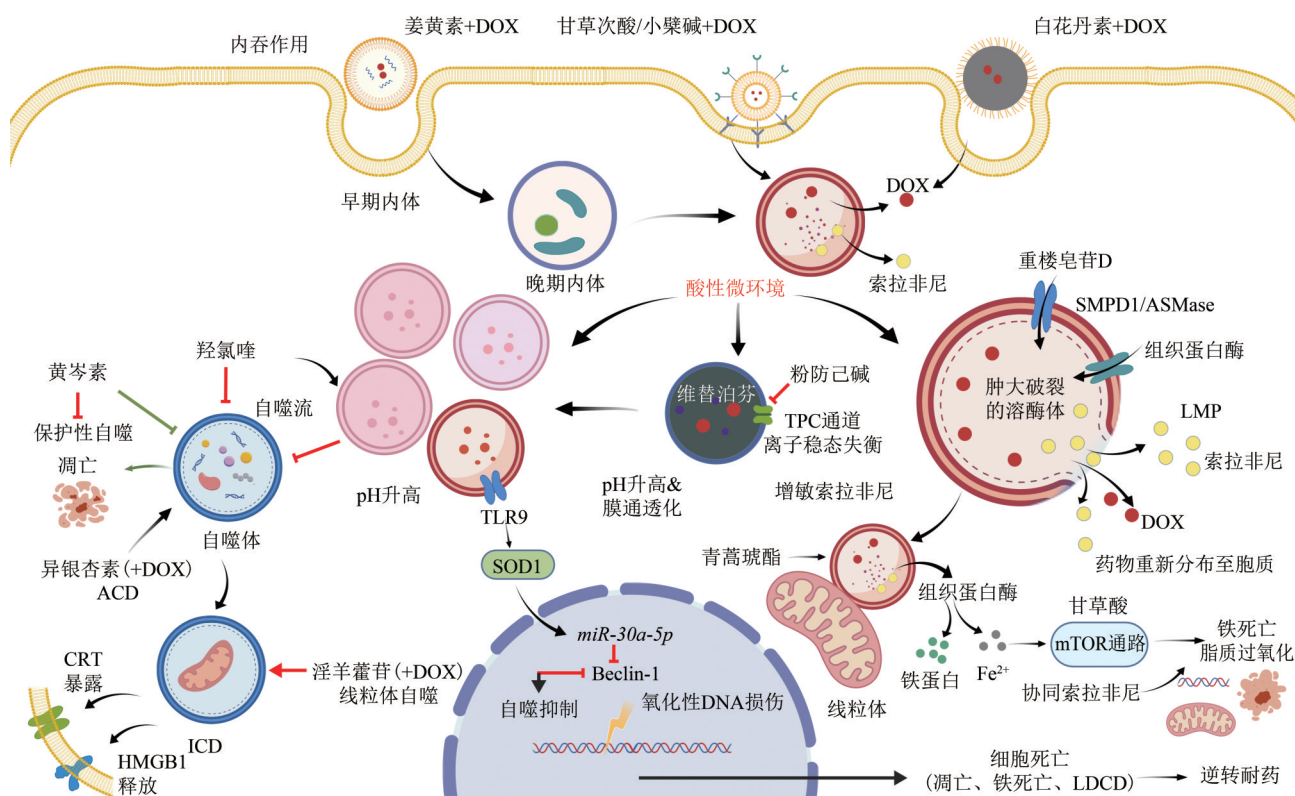


Fig.2 Schematic illustration of multidimensional targeting of the lysosome-autophagy axis to reverse drug resistance in liver cancer

图2 多维度靶向溶酶体-自噬轴以逆转肝癌耐药的示意图

天然产物及相关递送体系可通过酸性环境响应释药、抑制自噬通量、破坏溶酶体离子/酸化稳态、诱导LMP、调控TFEB/mTOR-铁死亡轴以及增强线粒体自噬和免疫原性细胞死亡ICD等途径,提高肝癌细胞对索拉非尼或DOX的治疗敏感性。DOX:阿霉素(doxorubicin);ACD:自噬性细胞死亡(autophagic cell death);CRT:钙网蛋白(calreticulin);HMGB1:高迁移率族蛋白B1(high mobility group box 1);ICD:免疫原性细胞死亡(immunogenic cell death);TLR9:Toll样受体9(Toll-like receptor 9);SOD1:超氧化物歧化酶1(superoxide dismutase 1);miR-30a-5p:微小RNA-30a-5p(microRNA-30a-5p);Beclin-1:自噬相关蛋白Beclin-1(Beclin 1);DNA:脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid);TPC:双孔通道(two-pore channel);SMPD1:鞘磷脂磷酸二酯酶1(sphingomyelin phosphodiesterase 1);ASMase,酸性鞘磷脂酶(acid sphingomyelinase);LMP:溶酶体膜通透化(lysosomal membrane permeabilization);mTOR:哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin);LDCD:溶酶体依赖性细胞死亡(lysosome-dependent cell death);pH:酸碱度(potential of hydrogen);Fe²⁺:亚铁离子(ferrous ion)。由BioGDP.com创作^[89]。

由单一环节决定,而是多个过程共同参与并相互强化,逐渐形成较为完整的耐受网络。其主要表现包括自噬通量增强带来的代谢补偿、溶酶体数量与容量增加所致的药物隔离从而降低有效暴露,以及TFEB或TFE3介导的溶酶体生物发生与转录重塑。由于耐药适应涉及多环节调控,单一靶点干预易被旁路补偿,多维度联合靶向策略可能更具优势。其一,从自噬末端与溶酶体扩容两端同时入手。抑制溶酶体酸化与终末降解,可直接削弱自噬清除功能,使药物压力累积为不可逆损伤,同时限制TFEB/TFE3通路,可在上游抑制溶酶体扩增与转录重塑,阻断代偿路径。其二,围绕药物隔离与溶

酶体致死性转换展开。耐药细胞依赖溶酶体隔离和外排药物,并通过溶酶体扩增维持存活。在此基础上,诱导溶酶体膜通透性增加,使组织蛋白酶外泄激活线粒体通路,放大死亡信号,同时药物重新分布至胞质。其中,溶酶体损伤修复和溶酶体自噬可被视为肿瘤细胞抵御LMP诱导和溶酶体应激的重要代偿环节,因此在诱导溶酶体损伤的同时限制其修复或再生能力,可能有助于将可逆性损伤转化为不可逆性细胞死亡。重楼皂苷D、Rh2/Rh2-O和维替泊芬等均提示该策略在逆转药物隔离相关耐药中具有较强潜力。其三,关注铁代谢、脂质过氧化与溶酶体功能的关联。溶酶体铁稳态失衡及脂质过氧

化累积, 可与铁死亡相互促进^[90-91]。在抑制自噬或诱导膜损伤条件下, 氧化损伤更易打破细胞防御, 与铁死亡诱导形成协同优势。青蒿琥酯、槲皮素、雷公藤红素和甘草酸等相关研究提示, 溶酶体不仅参与铁储存和释放, 也可能决定肝癌细胞对铁死亡的敏感性。但同时, 多维度策略在提升疗效的同时也会伴随潜在风险, 如缺乏肿瘤特异性可能影响免疫与肝脏稳态, 或诱导补偿性增强。因此, 这类策略依赖于治疗窗口、给药顺序及递送方式的系统优化。纳米共递送体系通过内吞进入溶酶体通路, 在酸性环境下触发释放, 能提高药物暴露与协同选择性, 为这类策略的转化提供了可行方向。

从临床转化角度看, 最具前景的方法并不是单独地使用某一种溶酶体靶向治疗药物, 而是将天然产物与索拉非尼、DOX 或其他标准治疗进行协同配伍。例如, 对于保护性自噬增强的肿瘤, 可优先考虑终末降解阻断策略; 对于表现出溶酶体扩增和药物隔离的耐药细胞, 可考虑 LMP 诱导或药物再分布策略; 对于铁代谢活跃或脂质过氧化抵抗能力低的肿瘤, 则可尝试铁死亡增敏策略。未来应建立基于缺氧程度、自噬通量、溶酶体酸化程度、TFEB 活性以及铁死亡相关指标的层次化治疗方案, 从而达到精准化联合用药的目的。

2.4 转化前景与挑战

目前的研究大多为临床前证据, 虽然靶向溶酶体的联合策略机制明确, 但是从实验室研究转换到临床应用却面临 4 个主要障碍: 其一, 药代动力学落差, HCQ 及多种天然单体在体内暴露水平、肿瘤内有效浓度和生物利用度普遍不足, 导致体外增敏效应难以直接复现于体内; 其二, 干预特异性不足, 抑酸化、抑降解或者诱导 LMP 等策略缺乏肿瘤选择性, 会影响免疫细胞功能和正常肝脏状态, 导致全身毒性和减少治疗窗口; 其三, 代偿性适应风险, 长时间的干预会使细胞内 TFEB 介导的溶酶体生物合成等反馈调节过程启动, 降低增强效果, 甚至促进耐药的产生^[64]; 其四, 预测性生物标志物不足, 目前大部分研究处于细胞或者动物模型阶段, 并未产生能够预测病人是否适用于溶酶体靶向联合治疗的标准方案。

改善递送系统是提高转化可行性的一个突破口。纳米共递送体系可利用内体-溶酶体通道, 在酸性条件下释放药物, 提高胞内药物传递及有效的暴露, 实现联合用药的效果。多项研究表明, 姜黄素^[82-83]、甘草次酸靶向脂质体^[84], 以及白花丹素

与 DOX 的纳米共递送, 都采用内体溶酶体的酸性微环境增强联合用药效果^[85] (图 2)。但是, 酸性激活释放并不一定意味着药物到达最终的作用靶点。很多纳米载体进入细胞之后会滞留在细胞内体或者溶酶体中, 如果药物释放之后不能从溶酶体中释放出来, 则可能导致细胞质、线粒体、细胞核等部位有效药物剂量不够^[92]。以 DOX 为例, 它主要作用位点在细胞核, 如果递送体系释放后仍滞留在溶酶体中, 则会影响其进入细胞核以及对 DNA 造成损伤效应^[93]。所以, 未来纳米共递送体系设计不仅要注重肿瘤细胞摄取和酸性释放, 还要注重从内体、溶酶体的逃逸能力。可以通过 pH 敏感性膜裂解材料、质子海绵效应、膜融合肽、光化学内化、氧化还原响应释放或核定位修饰等方式, 帮助药物脱离溶酶体向胞质或细胞核内转运^[94]。对于溶酶体靶向药物来说, 溶酶体滞留可能有利; 但对于 DOX 等核靶向药物, 过度的溶酶体滞留就是一种递送障碍。因此, 合理的纳米载体设计应根据药物的最终靶标来决定其在细胞内的去处: 溶酶体靶向药物可以利用酸性滞留, 而核靶向或者细胞质靶向的药物要考虑释放后的逃逸、再分配以及靶向转运等。

体内精准调控肿瘤细胞溶酶体稳态仍是一个亟待解决的问题。体内肿瘤组织的空间异质性较细胞实验更强, 不同区域的缺氧程度、酸性环境、血供情况、自噬水平以及溶酶体功能状态都不尽相同, 使得同一种溶酶体靶向治疗在不同肿瘤区域可能会出现不同的效果。目前体内实时监控溶酶体 pH、自噬流、LMP、溶酶体自噬、药物溶酶体隔离等技术手段尚未完善。有些指标在细胞层面容易检测, 但在动物体内或患者身上却难以做到即时、定量、分区地监测。

由于缺乏有效的指标以及肿瘤异质性问题, 患者分层是另一个重要的转化方向。设计以溶酶体酸化程度、LAMP1/2 表达量、TFEB 核定位程度、自噬流状态、铁死亡敏感性以及药物隔离能力为核心的指标集, 用于鉴别更适合溶酶体靶向疗法的患者群体。另外, 溶酶体靶向治疗的效果也会受到给药顺序以及时间窗口的影响。如先将肿瘤细胞转化为溶酶体依赖型状态, 再进行酸化抑制、LMP 诱导或铁死亡增敏等步骤, 这样的先后顺序比单纯同时给药更具有针对性。综上所述, 在溶酶体靶向治疗方面, 阻断溶酶体末端降解、TFEB 相关溶酶体生成^[95]及膜通透化等联合增敏的方法虽然机制明

确,但是在临床应用上还要受到药物剂量、肿瘤选择性、安全窗以及给药顺序等一系列问题的限制。

3 总结与展望

肝细胞癌在治疗应激下,常通过增强自噬和溶酶体系统来获取代谢底物、隔离化疗药物,从而形成耐药适应^[96]。因此,围绕溶酶体酸化与降解功能、TFEB和TFE3介导的生物发生,以及溶酶体膜通透化开展联合干预,有望从根源上削弱肿瘤的应激适应能力,为逆转耐药提供新的策略依据。

因此,临床转化需在以下3个层面进行统筹规划。a. 建立分层干预框架。依据缺氧程度、自噬流水平、溶酶体酸化程度及TFEB活性等指标实施分层治疗方案,确定不同的耐药阶段所采取的相应的措施以及用药的剂量。b. 优化递送系统设计。通过肝靶向性、肿瘤特异性富集、胞内递送路径选择及不同微环境下控制释放等方法,提高给药的特异性及有效性,在减轻正常肝细胞负荷的同时增加对耐药细胞溶酶体扩增的利用效率;c. 完善转化研究体系。推进标准化的生物标志物、可重复的模型验证以及药代—药效—安全性一体化的研究同步进行,系统阐明LMP的机制、联合治疗的时机以及可能带来的免疫及肝脏毒性,为临床应用提供科学依据。

溶酶体既是肝癌细胞抵御应激的“避难所”,也可成为其走向死亡的“引爆点”。如何在精准干预中发挥这一转化潜力,将是未来研究的关键命题。

参 考 文 献

- [1] Bray F, Laversanne M, Sung H, *et al.* Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2024, **74**(3): 229-263
- [2] Sangro B, Argemi J, Ronot M, *et al.* EASL Clinical Practice Guidelines on the management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*, 2025, **82**(2): 315-374
- [3] Gordan J D, Kennedy E B, Abou-Alfa G K, *et al.* Systemic therapy for advanced hepatocellular carcinoma: ASCO guideline update. *J Clin Oncol*, 2024, **42**(15): 1830-1850
- [4] Hwang S Y, Danpanichkul P, Agopian V, *et al.* Hepatocellular carcinoma: updates on epidemiology, surveillance, diagnosis and treatment. *Clin Mol Hepatol*, 2025, **31**(Suppl): S228-S254
- [5] Fuster-Anglada C, Mauro E, Ferrer-Fàbrega J, *et al.* Histological predictors of aggressive recurrence of hepatocellular carcinoma after liver resection. *J Hepatol*, 2024, **81**(6): 995-1004
- [6] Yan W T, Li C, Yao L Q, *et al.* Predictors and long-term prognosis of early and late recurrence for patients undergoing hepatic resection of hepatocellular carcinoma: a large-scale multicenter study. *Hepatobiliary Surg Nutr*, 2023, **12**(2): 155-168
- [7] Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive and integrative genomic characterization of hepatocellular carcinoma. *Cell*, 2017, **169**(7): 1327-1341.e23
- [8] Huang J X, Zhang W H, Wu Y M, *et al.* A study on overcoming post-TACE drug resistance in HCC based on controllable oxygen release-magnetic hyperthermia therapy. *Adv Healthc Mater*, 2024, **13**(32): 2402253
- [9] Chen J, Sun S, Li H, *et al.* IL-22 signaling promotes sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma via STAT3/CD155 signaling axis. *Front Immunol*, 2024, **15**: 1373321
- [10] Zhang C, Zhang T, Tang Q, *et al.* The integrated stress response in cancer: paradox and therapeutic promise. *Compr Physiol*, 2026, **16**(1): e70105
- [11] Tsai H W, Chen Y L, Wang C I, *et al.* Anterior gradient 2 induces resistance to sorafenib via endoplasmic reticulum stress regulation in hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell Int*, 2023, **23**(1): 42
- [12] Wu L, Weng Z, Yang X, *et al.* ARL8B regulates lysosomal function and predicts poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Sci Rep*, 2025, **15**(1): 12278
- [13] Tian W, Li C, Ren J, *et al.* Identification of *PPT1* as a lysosomal core gene with prognostic value in hepatocellular carcinoma. *Biosci Rep*, 2023, **43**(5): BSR20230067
- [14] Wang G, Jiang X, Torabian P, *et al.* Investigating autophagy and intricate cellular mechanisms in hepatocellular carcinoma: Emphasis on cell death mechanism crosstalk. *Cancer Lett*, 2024, **588**: 216744
- [15] Sancak Y, Bar-Peled L, Zoncu R, *et al.* Ragulator-Rag complex targets mTORC1 to the lysosomal surface and is necessary for its activation by amino acids. *Cell*, 2010, **141**(2): 290-303
- [16] Gotink K J, Broxterman H J, Labots M, *et al.* Lysosomal sequestration of sunitinib: a novel mechanism of drug resistance. *Clin Cancer Res*, 2011, **17**(23): 7337-7346
- [17] Serrano-Puebla A, Boya P. Lysosomal membrane permeabilization as a cell death mechanism in cancer cells. *Biochem Soc Trans*, 2018, **46**(2): 207-215
- [18] Wang B, Sun J, Kitamoto S, *et al.* Cathepsin S controls angiogenesis and tumor growth via matrix-derived angiogenic factors. *J Biol Chem*, 2006, **281**(9): 6020-6029
- [19] Chauhan N, Patro B S. Emerging roles of lysosome homeostasis (repair, lysophagy and biogenesis) in cancer progression and therapy. *Cancer Lett*, 2024, **584**: 216599
- [20] Trybus W, Trybus E, Król T. Lysosomes as a target of anticancer therapy. *Int J Mol Sci*, 2023, **24**(3): 2176
- [21] Dagogo-Jack I, Shaw A T. Tumour heterogeneity and resistance to cancer therapies. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, **15**(2): 81-94
- [22] Zhitomirsky B, Assaraf Y G. Lysosomes as mediators of drug resistance in cancer. *Drug Resist Updat*, 2016, **24**: 23-33
- [23] Chen Y, Tan X, Zhang W, *et al.* Natural products targeting

- macroautophagy signaling in hepatocellular carcinoma therapy: Recent evidence and perspectives. *Phytother Res*, 2024, **38**(3): 1623-1650
- [24] De duve C, Pressman B C, Gianetto R, *et al*. Tissue fractionation studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat-liver tissue. *Biochem J*, 1955, **60**(4): 604-617
- [25] Mindell J A. Lysosomal acidification mechanisms. *Annu Rev Physiol*, 2012, **74**: 69-86
- [26] Wang M, Liao J, Wang J, *et al*. HDAC2 promotes autophagy-associated HCC malignant progression by transcriptionally activating LAPTM4B. *Cell Death Dis*, 2024, **15**(8): 593
- [27] Li J, Wang H, Lu Q, *et al*. Lysosome-related genes and RNF19B as prognostic markers for survival and immunotherapy efficacy in hepatocellular carcinoma. *Clin Transl Gastroenterol*, 2024, **15**(6): e1
- [28] Forgac M. Vacuolar ATPases: rotary proton pumps in physiology and pathophysiology. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, **8**(11): 917-929
- [29] Weber R A, Yen F S, Nicholson S P V, *et al*. Maintaining iron homeostasis is the key role of lysosomal acidity for cell proliferation. *Mol Cell*, 2020, **77**(3): 645-655.e7
- [30] Xu J, Xie R, Liu X, *et al*. Expression and functional role of vacuolar H(+) -ATPase in human hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis*, 2012, **33**(12): 2432-2440
- [31] Lu S, Yao Y, Xu G, *et al*. CD24 regulates sorafenib resistance via activating autophagy in hepatocellular carcinoma. *Cell Death Dis*, 2018, **9**(6): 646
- [32] Klionsky D J, Abdel-Aziz A K, Abdelfatah S, *et al*. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition). *Autophagy*, 2021, **17**(1): 1-382
- [33] Papadopoulos C, Kravic B, Meyer H. Repair or lysophagy: dealing with damaged lysosomes. *J Mol Biol*, 2020, **432**(1): 231-239
- [34] Boya P, Andreau K, Poncet D, *et al*. Lysosomal membrane permeabilization induces cell death in a mitochondrion-dependent fashion. *J Exp Med*, 2003, **197**(10): 1323-1334
- [35] Brunk U T, Zhang H, Dalen H, *et al*. Exposure of cells to nonlethal concentrations of hydrogen peroxide induces degeneration-repair mechanisms involving lysosomal destabilization. *Free Radic Biol Med*, 1995, **19**(6): 813-822
- [36] Villamil Giraldo A M, Appelqvist H, Ederth T, *et al*. Lysosomotropic agents: impact on lysosomal membrane permeabilization and cell death. *Biochem Soc Trans*, 2014, **42**(5): 1460-1464
- [37] Blomgran R, Zheng L, Stendahl O. Cathepsin-cleaved Bid promotes apoptosis in human neutrophils via oxidative stress-induced lysosomal membrane permeabilization. *J Leukoc Biol*, 2007, **81**(5): 1213-1223
- [38] Nagakannan P, Islam M I, Conrad M, *et al*. Cathepsin B is an executioner of ferroptosis. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2021, **1868**(3): 118928
- [39] Mu M, Huang C X, Qu C, *et al*. Targeting ferroptosis-elicited inflammation suppresses hepatocellular carcinoma metastasis and enhances sorafenib efficacy. *Cancer Res*, 2024, **84**(6): 841-854
- [40] Radulovic M, Schink K O, Wenzel E M, *et al*. ESCRT-mediated lysosome repair precedes lysophagy and promotes cell survival. *EMBO J*, 2018, **37**(21): e99753
- [41] Gahlot P, Kravic B, Rota G, *et al*. Lysosomal damage sensing and lysophagy initiation by SPG20-ITCH. *Mol Cell*, 2024, **84**(8): 1556-1569.e10
- [42] Martina J A, Diab H I, Li L, *et al*. The nutrient-responsive transcription factor TFE3 promotes autophagy, lysosomal biogenesis, and clearance of cellular debris. *Sci Signal*, 2014, **7**(309): ra9
- [43] Jeong E, Willett R, Rissone A, *et al*. TMEM55B links autophagy flux, lysosomal repair, and TFE3 activation in response to oxidative stress. *Nat Commun*, 2024, **15**(1): 93
- [44] Sardiello M, Palmieri M, di Ronza A, *et al*. A gene network regulating lysosomal biogenesis and function. *Science*, 2009, **325**(5939): 473-477
- [45] Rocznik-Ferguson A, Petit C S, Froehlich F, *et al*. The transcription factor TFEB links mTORC1 signaling to transcriptional control of lysosome homeostasis. *Sci Signal*, 2012, **5**(228): ra42
- [46] Rao Q, Guo M, Sun J, *et al*. Sulfiredoxin-1 promotes the growth of hepatocellular carcinoma by inhibiting TFEB-mediated autophagy and lysosome biogenesis. *Exp Cell Res*, 2024, **441**(2): 114169
- [47] Martina J A, Chen Y, Gucek M, *et al*. MTORC1 functions as a transcriptional regulator of autophagy by preventing nuclear transport of TFEB. *Autophagy*, 2012, **8**(6): 903-914
- [48] Sancak Y, Peterson T R, Shaul Y D, *et al*. The Rag GTPases bind raptor and mediate amino acid signaling to mTORC1. *Science*, 2008, **320**(5882): 1496-1501
- [49] Bar-Peled L, Schweitzer L D, Zoncu R, *et al*. Ragulator is a GEF for the rag GTPases that signal amino acid levels to mTORC1. *Cell*, 2012, **150**(6): 1196-1208
- [50] Kim J, Kundu M, Viollet B, *et al*. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nat Cell Biol*, 2011, **13**(2): 132-141
- [51] Yu L, McPhee C K, Zheng L, *et al*. Termination of autophagy and reformation of lysosomes regulated by mTOR. *Nature*, 2010, **465**(7300): 942-946
- [52] Elleithi Y, El-Gayar A, Amin M N. Autophagy modulation attenuates sorafenib resistance in HCC induced in rats. *Cell Death Dis*, 2024, **15**(8): 595
- [53] Zhang W, Du D, Lu H, *et al*. FAT10 mediates the sorafenib-resistance of hepatocellular carcinoma cells by stabilizing E3 ligase NEDD4 to enhance PTEN/AKT pathway-induced autophagy. *Am J Cancer Res*, 2024, **14**(4): 1523-1544
- [54] Shi Y H, Ding Z B, Zhou J, *et al*. Targeting autophagy enhances sorafenib lethality for hepatocellular carcinoma via ER stress-related apoptosis. *Autophagy*, 2011, **7**(10): 1159-1172
- [55] Yousef M, Le T S, Zuo J, *et al*. Sub-cellular sequestration of alkaline drugs in lysosomes: new insights for pharmaceutical development of lysosomal fluid. *Res Pharm Sci*, 2023, **18**(1): 1-15

- [56] Stark M, Silva T F D, Levin G, *et al.* The lysosomotropic activity of hydrophobic weak base drugs is mediated *via* their intercalation into the lysosomal membrane. *Cells*, 2020, **9**(5): 1082
- [57] Agalakova N I. Chloroquine and chemotherapeutic compounds in experimental cancer treatment. *Int J Mol Sci*, 2024, **25**(2): 945
- [58] Mlejnek P, Havlasek J, Pastvova N, *et al.* Lysosomal sequestration of weak base drugs, lysosomal biogenesis, and cell cycle alteration. *Biomedicine Pharmacother*, 2022, **153**: 113328
- [59] Zhitomirsky B, Assaraf Y G. Lysosomal sequestration of hydrophobic weak base chemotherapeutics triggers lysosomal biogenesis and lysosome-dependent cancer multidrug resistance. *Oncotarget*, 2015, **6**(2): 1143-1156
- [60] Yamagishi T, Sahni S, Sharp D M, *et al.* P-glycoprotein mediates drug resistance *via* a novel mechanism involving lysosomal sequestration. *J Biol Chem*, 2013, **288**(44): 31761-31771
- [61] Fu D, Zhou J, Zhu W S, *et al.* Imaging the intracellular distribution of tyrosine kinase inhibitors in living cells with quantitative hyperspectral stimulated Raman scattering. *Nat Chem*, 2014, **6**(7): 614-622
- [62] Kaufmann A M, Krise J P. Lysosomal sequestration of amine-containing drugs: analysis and therapeutic implications. *J Pharm Sci*, 2007, **96**(4): 729-746
- [63] Colombo F, Trombetta E, Cetrangolo P, *et al.* Giant lysosomes as a chemotherapy resistance mechanism in hepatocellular carcinoma cells. *PLoS One*, 2014, **9**(12): e114787
- [64] Zhitomirsky B, Yunaev A, Kreiserman R, *et al.* Lysosomotropic drugs activate TFEB *via* lysosomal membrane fluidization and consequent inhibition of mTORC1 activity. *Cell Death Dis*, 2018, **9**(12): 1191
- [65] Wang J, Su Q, Wu Q, *et al.* Sanguinarine impairs lysosomal function and induces ROS-dependent mitophagy and apoptosis in human hepatocellular carcinoma cells. *Arch Pharm Res*, 2021, **44**(11): 1025-1036
- [66] Wang N, Liu H, Liu G, *et al.* Yeast β -D-glucan exerts antitumour activity in liver cancer through impairing autophagy and lysosomal function, promoting reactive oxygen species production and apoptosis. *Redox Biol*, 2020, **32**: 101495
- [67] Wu N, Li J, Luo H, *et al.* Hydroxysafflor yellow A promotes apoptosis *via* blocking autophagic flux in liver cancer. *Biomedicine Pharmacother*, 2021, **136**: 111227
- [68] Yu H, Hao Z, Liu X, *et al.* Autophagy blockage and lysosomal dysfunction are involved in diallyl sulfide-induced inhibition of malignant growth in hepatocellular carcinoma cells. *Environ Toxicol*, 2023, **38**(9): 2100-2110
- [69] Sperandio L P, Lins I V F, Erustes A G, *et al.* Blocking autophagy by the two-pore channels antagonist tetrandrine improves sorafenib-induced death of hepatocellular carcinoma cells. *Toxicol In Vitro*, 2023, **90**: 105603
- [70] Rong L W, Wang R X, Zheng X L, *et al.* Combination of wogonin and sorafenib effectively kills human hepatocellular carcinoma cells through apoptosis potentiation and autophagy inhibition. *Oncol Lett*, 2017, **13**(6): 5028-5034
- [71] Wang Z X, Ma J, Li X Y, *et al.* Quercetin induces p53-independent cancer cell death through lysosome activation by the transcription factor EB and reactive oxygen species-dependent ferroptosis. *Br J Pharmacol*, 2021, **178**(5): 1133-1148
- [72] Ma J, Li Y Z, Li M X, *et al.* Celastrol induces liver cancer cell death *via* TFEB-mediated lysosome activation and ROS-dependent ferroptosis. *Biochem Pharmacol*, 2026, **248**: 117848
- [73] Li Z J, Dai H Q, Huang X W, *et al.* Artesunate synergizes with sorafenib to induce ferroptosis in hepatocellular carcinoma. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, **42**(2): 301-310
- [74] Hu Y, Luo Z, Cai S, *et al.* Glycyrrhizic acid attenuates sorafenib resistance by inducing ferroptosis *via* targeting mTOR signaling in hepatocellular carcinoma. *Scand J Gastroenterol*, 2024, **59**(6): 730-736
- [75] Chen F, Deng Z, Xiong Z, *et al.* A ROS-mediated lysosomal-mitochondrial pathway is induced by ginsenoside Rh2 in hepatoma HepG2 cells. *Food Funct*, 2015, **6**(12): 3828-3837
- [76] Chen F, Zhang B, Sun Y, *et al.* The octyl ester of ginsenoside Rh2 induces lysosomal membrane permeabilization *via* Bax translocation. *Nutrients*, 2016, **8**(5): 244
- [77] Wang Y, Chen Y Y, Gao G B, *et al.* Polyphyllin D punctures hypertrophic lysosomes to reverse drug resistance of hepatocellular carcinoma by targeting acid sphingomyelinase. *Mol Ther*, 2023, **31**(7): 2169-2187
- [78] Gavini J, Dommann N, Jakob M O, *et al.* Verteporfin-induced lysosomal compartment dysregulation potentiates the effect of sorafenib in hepatocellular carcinoma. *Cell Death Dis*, 2019, **10**(10): 749
- [79] Kim D G, Jung K H, Lee D G, *et al.* 20(S)-Ginsenoside Rg3 is a novel inhibitor of autophagy and sensitizes hepatocellular carcinoma to doxorubicin. *Oncotarget*, 2014, **5**(12): 4438-4451
- [80] Wang Y, Yi Y, Yao J, *et al.* Isoginkgetin synergizes with doxorubicin for robust co-delivery to induce autophagic cell death in hepatocellular carcinoma. *Acta Biomater*, 2022, **153**: 518-528
- [81] Yu Z, Guo J, Hu M, *et al.* Icaritin exacerbates mitophagy and synergizes with doxorubicin to induce immunogenic cell death in hepatocellular carcinoma. *ACS Nano*, 2020, **14**(4): 4816-4828
- [82] Zhao X, Chen Q, Liu W, *et al.* Codelivery of doxorubicin and curcumin with lipid nanoparticles results in improved efficacy of chemotherapy in liver cancer. *Int J Nanomedicine*, 2015, **10**: 257-270
- [83] Liang J, Liang Y, Yan F, *et al.* Novel targeting liposomes with enhanced endosomal escape for co-delivery of doxorubicin and curcumin. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2025, **245**: 114267
- [84] Xu N, Wu J, Wang W, *et al.* Anti-tumor therapy of glycyrrhetic acid targeted liposome co-delivery of doxorubicin and berberine for hepatocellular carcinoma. *Drug Deliv Transl Res*, 2024, **14**(9): 2386-2402
- [85] Cao C, Li Y, Shi F, *et al.* Nano co-delivery of doxorubicin and plumbagin achieves synergistic chemotherapy of hepatocellular carcinoma. *Int J Pharm*, 2024, **661**: 124424
- [86] Chen M Y, Yadav V K, Chu Y C, *et al.* Hydroxychloroquine (HCQ)

- modulates autophagy and oxidative DNA damage stress in hepatocellular carcinoma to overcome sorafenib resistance *via* TLR9/SOD1/hsa-miR-30a-5p/beclin-1 axis. *Cancers*, 2023, **15**(4): 1028
- [87] Bhardwaj M, Lee J J, Versace A M, *et al.* Lysosomal lipid peroxidation regulates tumor immunity. *J Clin Invest*, 2023, **133**(8): e164596
- [88] Repnik U, Hafner Česen M, Turk B. Lysosomal membrane permeabilization in cell death: concepts and challenges. *Mitochondrion*, 2014, **19**(PtA): 49-57
- [89] Jiang S, Li H, Zhang L, *et al.* Generic Diagramming Platform (GDP): a comprehensive database of high-quality biomedical graphics. *Nucleic Acids Res*, 2025, **53**(D1): D1670-D1676
- [90] Zhang L, Wang X. Nelfinavir triggers ferroptosis by inducing ER stress mediated downregulation of GPX4/GSH system, upregulation of NRF2/HO-1 axis, and mitochondrial impairment in hepatocellular carcinoma cells. *Cell Death Discov*, 2025, **11**(1): 444
- [91] Lai Y, Han X, Xie B, *et al.* EZH2 suppresses ferroptosis in hepatocellular carcinoma and reduces sorafenib sensitivity through epigenetic regulation of TFR2. *Cancer Sci*, 2024, **115**(7): 2220-2234
- [92] Selby L I, Cortez-Jugo C M, Such G K, *et al.* Nanoescapology: progress toward understanding the endosomal escape of polymeric nanoparticles. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 2017, **9**(5): e1452
- [93] Seebacher N A, Richardson D R, Jansson P J. A mechanism for overcoming P-glycoprotein-mediated drug resistance: novel combination therapy that releases stored doxorubicin from lysosomes *via* lysosomal permeabilization using Dp44mT or DpC. *Cell Death Dis*, 2016, **7**(12): e2510
- [94] Desai N, Rana D, Salave S, *et al.* Achieving endo/lysosomal escape using smart nanosystems for efficient cellular delivery. *Molecules*, 2024, **29**(13): 3131
- [95] Chen H, Liu J, Cao Z, *et al.* Enhancing hepatocellular carcinoma therapy with DOX-loaded SiO₂ nanoparticles *via* mTOR-TFEB pathway autophagic flux inhibition. *J Nanobiotechnology*, 2025, **23**(1): 27
- [96] Seydi H, Nouri K, Rezaei N, *et al.* Autophagy orchestrates resistance in hepatocellular carcinoma cells. *Biomedecine Pharmacother*, 2023, **161**: 114487

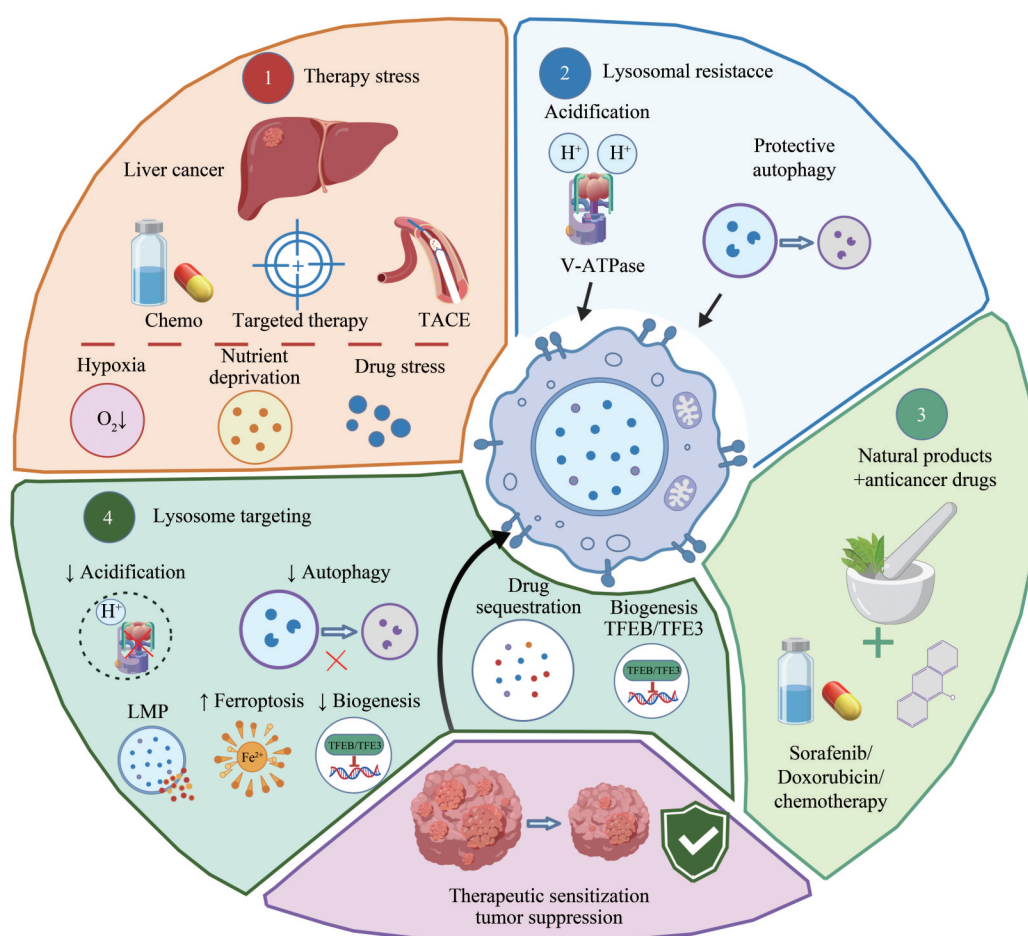
Lysosomal Homeostasis and Chemoresistance in Liver Cancer: Natural Product-based Combination Strategies Targeting Lysosomes*

HUANG Chun-Ping¹⁾, LI Yong-Zhuo¹⁾, ZHOU Jing^{1,2)**}

⁽¹⁾Department of Physiology, School of Basic Medical Sciences, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China;

⁽²⁾Key Laboratory of Basic Research on Regional Diseases (Guangxi Medical University), Nanning 530021, China)

Graphical abstract



Abstract Liver cancer is one of the world's serious diseases today because of its high frequency and fatality rate, genetic differences, and limited effectiveness of late-stage therapy. Although chemotherapy, targeted therapy, immunotherapy, ablation and transarterial chemoembolisation (TACE) have improved the disease control of some

* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (U22A20374).

** Corresponding author.

Tel: 86-771-5358212, E-mail: gardenia_zhou@hotmail.com

Received: March 12, 2026 Accepted: June 24, 2026

patients, recurrence and acquired resistance are still common, especially for tumors that are hypoxic, nutrient-deprived, acidic-stressed, vascularly insufficient and exposed to repeated drug pressure. A bad environment will cause a change in the quality-control system and metabolism of cancer cells, and as a result, lysosomes have started to alter. In addition to the above catabolic functions of lysosomes, they also take part in autophagic flux, substrate recycling, iron and lipid metabolism, nutrient sensing, drug distribution, membrane repair and cell death signalling. Under the stress of therapy in liver cancer cells, increased lysosomal acidification and enhanced terminal degradation lead to prolonged autophagy; TFEB/TFE3 promotes the formation of new lysosomes and lysophagosomes to sequester weakly basic drugs, thereby reducing the concentration of active drugs and mitigating proteotoxicity and oxidative stress to promote cell survival. The above processes produce a lysosome-dependent resistant phenotype that is particularly relevant to sorafenib and doxorubicin and other drugs whose effectiveness can be reduced by protective autophagy or changes in intracellular location. Conversely, the same dependency on lysosomal homeostasis is also a vulnerability. Natural products and monomeric compounds derived from Chinese herbal medicines have various structures, multiple target regulation capabilities, and the potential to act on several lysosome-related nodes simultaneously. Based on the evidence in this review, it is believed that such compounds may sensitise liver cancer cells by inhibiting V-ATPase-mediated acid hydrolysis, obstructing late-stage autophagy-mediated degradation, disrupting lysosomal calcium or membrane homeostasis, causing lysosomal membrane permeabilisation, reducing compensatory lysosomal biogenesis, promoting ferritin degradation and ferroptosis, or enhancing acid-responsive intracellular delivery. Agents that impair lysosomal function and protective autophagy, compounds that convert enlarged or drug-sequestering lysosomes into lethal targets, and nanodelivery systems that exploit the acidic environment of endolysosomes to co-deliver natural products with chemotherapeutic drugs are examples. Lysosome-targeted intervention will have different effects under different circumstances; for example, inhibiting autophagy may result in an increase in cytotoxic stress in some areas, whereas overstimulation of autophagy or iron release from lysosomes may induce autophagic cell death or ferroptosis in other areas. Therefore, the design of therapy should take into account the status of the tumour microenvironment, autophagic flux, lysosomal pH, TFEB/TFE3 activity, drug sequestration capacity, ferroptosis sensitivity, dosing sequence and delivery route. This review systematically examines the lysosomal homeostasis in the microenvironment of liver cancer, the mechanisms through which lysosomal adaptation contributes to chemoresistance, and the rationale for combining natural products with standard agents such as sorafenib and doxorubicin. Based on basic lysosome biology, pharmacodynamic and delivery data have also been collected; as a result, some applications for future studies have been proposed, such as dynamic monitoring of autophagy flux, *in vivo* spatial measurements of lysosomal functions, rational optimisation of combination therapy timings, and safety assessments in immunocompetent liver cancer models prior to clinical translation. Translation difficulties are also evident, such as insufficient tumour selectivity, pharmacokinetic limitations, compensatory lysosomal regeneration, toxicity to normal liver and immune cells, and a lack of validated predictive biomarkers. A new way will be found to use biomarkers to divide the patient group, optimize nanoparticles for better delivery, design specific schedules for combined treatments based on the problem they cause within the cell, etc., thereby overcoming drug resistance and reducing the harm patients suffer from toxic treatments. This system can help select biomarkers and rational drug pairs for the next round of lysosome-centred precision trials.

Key words lysosome, liver cancer, chemoresistance, natural products, combination strategy

DOI: 10.3724/j.pibb.2026.0126

CSTR: 32369.14.pibb.20260126