

脂滴质量控制及其多细胞器间通讯调控研究进展

黄婧, 林育纯, 林忠宁*

(厦门大学公共卫生学院, 分子疫苗学和分子诊断学国家重点实验室, 福建 厦门 361102)

摘要: 脂滴 (lipid droplet, LD) 一直都被作为储存脂质的细胞器, 近年来许多证据表明LD在脂质稳态中有着活跃表现。其结构含有特定的蛋白质组成, 能够调节其生物发生和细胞器质量控制, 通过细胞器膜接触位点调节多细胞器间信号通讯。作为细胞脂质稳态调节器, LD参与调节外源物诱导的脂质组分代谢和脂毒性结局转归。靶向LD动态的分子功能设计可成为调控脂质代谢相关损伤和疾病的新契机。该文以LD质量控制 (LD quality control, LDQC) 为出发点, 主要阐述LD与线粒体、ER和溶酶体的多细胞器间通讯及其蛋白质分子调控相关研究进展, 以展示LD动态在外源物介导细胞和机体脂质代谢与稳态调节中的作用。

关键词: 脂滴; 细胞器质量控制; 细胞器间通讯; 脂质稳态; 脂毒性

中图分类号: R 543

文献标志码: A

脂滴 (lipid droplet, LD) 是细胞内中性脂质的主要存储细胞器; 作为一种较为保守的细胞器, LD与其他细胞器不同, 表现出独特的拓扑结构, 主要由外层多种磷脂构成的单层膜、以及该单层磷脂分子层包裹的甘油三酯 (triglyceride, TG) 和胆固醇酯 (cholesteryl ester, CE) 组成的疏水核心构成^[1]。LD表面磷脂膜能够富集大量蛋白, 是调控LD结构和功能的重要靶分子, 可经由生物发生和生长而经历不同的动态变化过程, 包括LD的合成、分解、融合和分裂^[2]。LD结构和组成的多样性, 表现出在某种程度上具有调节脂质-蛋白相互作用的功能。近年来, 研究发现了LD越来越多的新功能: 首先, LD可以作为蛋白暂时驻存和周转、组装蛋白复合物、甚至病毒组装的关键平台^[3]; 其次, LD可与多个细胞器进行信号通路串话 (crosstalk), 通过细胞器之间的膜接触位点 (membrane contact site, MCS) 参与细胞器间通讯和介导细胞脂质稳态的调控^[4]; 第三, LD表面蛋白质组成作为控制其结构的关键, 可通过介导多细胞器分子机器中蛋白-蛋白相互作用以及蛋白质翻译后修饰调节蛋白质质量控制, 以调控LD动态和功能依赖性的细胞功能及其活性。因此, 本文综述了LD相关细胞器质量控制及其与多细胞器间通讯的动态研究进展, 并探讨其在细胞内脂质代谢稳态和外源物诱导脂毒性等调控机制方面的作用。

1 LD质量控制及其调节

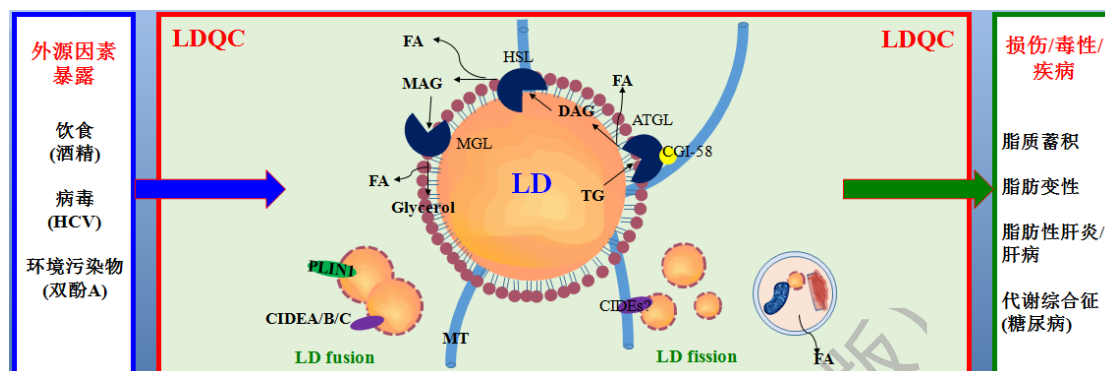
LD作为高度活跃的细胞器, 通过其组分的合成、分解, LD的分裂、融合及选择性自噬等过程, 维持自身结构、动态和功能的完整性, 以平衡细胞内LD数量、大小和分布, 保证整体细胞的脂质

收稿日期: 2019-11-07 录用日期: 2020-03-09

基金项目: 国家自然科学基金(81973082, 81773465)

*通信作者: linzhn@xmu.edu.cn

稳态。因此，与其他细胞器质量控制类似^[5-6]，LD 可表现为 LD 质量控制 (LD quality control, LDQC) 的生物学特性。研究表明，LDQC 受各种动态变化的 LD 组分特别是表面调节蛋白的精细调控，主要包括围脂滴蛋白 (perilipins, PLINs) 家族的 5 个成员 PLIN1~PLIN5，以及细胞死亡诱导的 DNA 碎片化因子样效应蛋白 (cell-death-inducing DNA-fragmentation-factor-like effector, CIDE) 家族^[7]；并由此将 LD 与其他细胞器以及全细胞脂质稳态联系起来 (图 1)。



LDQC: 脂滴质量控制; HCV: 丙型肝炎病毒; FA: 脂肪酸; ATGL: 脂肪甘油三酯脂肪酶; HSL: 激素敏感性脂肪酶; MGL: 单酰基甘油脂肪酶; CGI-58: 比较基因识别-58; TG: 甘油三酯; DAG: 二酰基甘油; MAG: 单酰基甘油; PLIN1: 围脂滴蛋白 1; CIDEA/B/C: 细胞死亡诱导的 DNA 碎片化因子样效应蛋白 A、B、C 家族; MT: 微管(microtubule); LD fusion: 脂滴融合; LD fission: 脂滴分裂。

图 1 脂滴质量控制参与外源因素诱导细胞转归调控示意图

Fig.1 Schematic diagram for the regulation of lipid droplet quality control involved in cellular outcomes induced by xenobiotics

1.1 LD 组分的合成与 LD 生物发生

LD 生物发生的关键之一是中性脂质的合成，其中 TG 和 CE 的合成是 LD 形成的先决条件，影响到 LD 的形态和大小。在哺乳动物细胞中，主要由二酰基甘油酰基转移酶(diacylglycerol acyltransferase 1/2, DGAT1/2)催化 TG 合成，由乙酰辅酶 A 胆固醇酰基转移酶(acetyl-CoA cholesterol acyltransferase 1/2, ACAT1/2)完成 CE 合成。这些酶主要存在于内质网(endoplasmic reticulum, ER)膜中，且 ACAT1 和 DGAT2 富集在线粒体关联性内质网膜(mitochondria-associated membrane, MAM)中，这也是目前支持 LD 发生起源于 ER 的直接证据之一^[8]。由 ER 合成发生的 LD，在专门用于脂肪储存的脂肪细胞中 LD 直径可达 100 μm ，而在其他细胞一般产生 0.1~10 μm 尺寸范围内的 LD^[9]。Choudhary 等^[10]发现脂肪沉积诱导性跨膜蛋白 (fat storage induced transmembrane, FIT) 对于促进新生 LD 从 ER 中出芽的过程是必须的；敲除或敲低酵母和高等真核生物中的 FIT，导致 LD 驻留在 ER 膜中，影响新生 LD 的出芽。ER 膜上特定区域的 TG/CE 成核被认为是 LD 生物发生的位点，存在于 ER 双层膜之间^[11]。随着中性脂质在 LD 发生位点的积累，LD 开始膨大形成“晶状体(lens)”样结构，进而在先天性全身脂肪营养不良 2 型 (Berardinelli-Seip congenital lipo-dystrophy 2, BSCL2) 基因编码蛋白 seipin 等参与下，通过调节甘油-3-磷酸酰基转移酶(glycerol-3-phosphate acyltransferase, GPAT)，

获取更多的磷脂成分增大单层膜面积，形成新生 LD^[12-13]。此外，中性脂质的生成需要较低的双层膜张力；最近的研究数据表明，在磷脂酶 A2 (phospholipase A2, PLA2) 作用下，HeLa 细胞瞬时产生了较高含量的溶血磷脂，能够导致双层膜张力降低，诱导 LD 的形成^[14]。

1.2 LD组分的动态分解及其脂自噬调控

LD 中的 TG 分解主要涉及 LD 上驻留的 3 种酶的催化。首先，LD 中的 TG 由表面的脂肪甘油三酯脂肪酶 (adipose triglyceride lipase, ATGL) 催化反应成二酰基甘油 (diacyl glycerol, DAG) 和一分子脂肪酸；然后，在 LD 中的激素敏感性脂肪酶 (hormone sensitive lipase, HSL) 的催化下，DAG 转化为单酰基甘油 (monoacyl glycerol, MAG)；最后，MAG 经过单酰基甘油脂肪酶 (monoacylglycerol lipase, MGL) 催化生成甘油和脂肪酸^[15]。LD 表面的脂质-蛋白质互作，能够经由 LD 表面蛋白质组的动态变化进而调控水解酶 (如 ATGL) 分解 LD，形成脂肪酸；例如 Wang 等^[16]在 *PLIN5* 基因过表达的小鼠肝实质细胞 AML12 中发现 *PLIN5* 可通过调节 ATGL 与比较基因识别-58 (comparative gene identification-58, CGI-58) 的相互作用及其脂解活性，抑制 LD 中 TG 组分降解，并通过 C 末端最后 20 个氨基酸调控 LD 与线粒体之间的物理作用，促进脂肪酸合成 TG，以及减少线粒体对脂肪酸的利用；Listenberger 等^[17]在过表达 *PLIN2* 的人胚肾 293 细胞 (该细胞表达非常低的 *PLIN2* 水平) 中发现，*PLIN2* 分布于细胞中 LD 表面，减少 ATGL 与 LD 的关联，导致细胞中 TG 水平增加，代谢分解下降，提示 *PLIN2* 表达可通过减少部分水解酶与 LD 结合来减缓细胞中 TG 分解。

LD 中的 CE 主要是经由中性胆固醇酯水解酶 (neutral cholesterol ester hydrolase, nCEH) 转化为游离胆固醇 (FC)。Igarashi 等^[18]发现 nCEH 过表达促进 CE 水解，敲除 nCEH 明显促进含有大量 LD 的泡沫细胞形成，验证了 nCEH 在维持细胞内 LD 动态平衡中的关键作用。白细胞介素 33 (interleukin-33, IL-33) 是最近发现的 IL-1 细胞因子家族的成员，McLaren 等^[19]发现 IL-33 可以通过激活生长刺激表达基因 2 (growth stimulation expressed gene 2, ST2) 蛋白/核因子 κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 信号通路，降低原代人单核细胞源性巨噬细胞中 nCEH 的 mRNA 水平，减少了细胞内 LD 的生成。

新近研究表明，选择性自噬，特别是脂自噬机制，在 LD 组分动态分解中发挥重要调控作用。Singh 等^[20]在 RALA255-10G 大鼠肝细胞中验证饥饿诱导的自噬有助于 LD 降解，导致了术语“脂自噬 (lipophagy)”的起源。Martinez-Lopez 等^[21]研究表明，在冷 (4°C) 刺激下诱导 C57B6 小鼠肝脏中自噬标志蛋白微管相关蛋白轻链 3 (microtubule-associated protein light chain 3, LC3) 与 LD 表面 ATGL 相互作用，经由 ATGL 上 LC3 相互作用区域 (LC3-interacting region, LIR) 的苯丙氨酸 (Phe, F) 型突变，破坏了 ATGL 在 LD 上对 TG 的分解作用；然而，LC3-II (有助于自噬小体形成的标记物) 在 LD 上定位的增强，可激活脂自噬的发生。研究发现，细胞中 *PLIN2* 过表达可保护 LD 免受宏自噬影响；*PLIN2* 基因敲除小鼠中，可增强自噬并消耗肝中 TG，导致 LD 的减少。此外，Irungbam 等^[22]新发现降低 *PLIN2* 表达能够促进 LC3-II 与 LAMP1 在 LD 表面共定位增加，诱导脂自噬的发生，缓解肝脂肪变性。分子伴侣介导自噬 (chaperone-mediate autophagy, CMA) 是一种选择性自噬，可通过降解 LD 相关蛋白促进 LD 中中性脂质分解^[23-24]。Kaushik 等^[23]从饥饿 48 h 的 Wistar 雄性大鼠肝

脏中提取具有 CMA 活性的溶酶体，检测到溶酶体组分中 PLIN2 和 PLIN3 蛋白的表达减少，证实 PLIN2 和 PLIN3 是 CMA 的底物；在 NIH3T3 小鼠成纤维细胞中，发现油酸处理可经由热休克同源蛋白 70 (heat shock cognate protein 70, HSC70) 通过五肽 KFERQ 基序与 PLIN2 相互作用，进而发现 CMA 的底物 PLIN2 经由 AMP 活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 磷酸化形成 p-PLIN2，并从 LD 表面转移到溶酶体上，促进 ATGL 对 LD 中性脂质的分解^[25]。表明脂自噬可靶向 LD 参与对脂质代谢的调控。

1.3 LD融合

LD 快速的聚结过程，称为脂滴融合 (lipid droplet fusion)，是 LD 生长的一种动态变化方式^[26]。较小的 LD 融合形成一些大直径的 LD，该过程可引起 LD 结构和功能相关的 LDQC 动态变化，进而影响脂质代谢。Robenek 等^[27]在给予乙酰化低密度脂蛋白孵育 24 h 的 THP-1 巨噬细胞中，利用冷冻断层电子显微镜观察到大量积聚 LD 的动态变化，图像分析表明一些大的 LD 可能是由多个较小的 LD 融合产生。研究表明，CIDE 家族是 LD 融合过程中的关键蛋白，包括 CIDEA、CIDEB 和 CIDE C 等 3 个成员^[28]。其中，CIDEA 和 CIDE C (也称为 Fsp27) 是控制脂肪细胞中超大型 LD 形成的关键因素。与野生型、CIDEA、Fsp27 基因缺陷小鼠脂肪细胞中的 LD (直径均>4.0 μm) 相比，CIDEA/Fsp27 双基因缺陷小鼠的脂肪细胞中显示包含较小的 LD (直径<0.6 μm)，进一步减少脂质的储存和积累，表明可以通过 CIDE 促进 LD 直径的增加而实现 LD 动态融合^[29]。在采用瞬转过表达 EGFP-Fsp27 的 3T3-L1 脂肪前体细胞中，Fsp27 通过在 LD 之间的膜接触部位富集，促进中性脂质在 LD 间的转运，从而促进 LD 融合^[26,30]。在外源表达 GFP-Fsp27 的 3T3-L1 细胞中，PLIN1 通过 C 末端 aa 292-319 结构域与 Fsp27 的 N 端 aa 38-120 结构域相互作用，调控 LD 融合介导 LD 数量减少、LD 直径增加，经由调节 LD 形态介导 LDQC^[31-32]。Rab 鸟苷三磷酸水解酶 (guanosine triphosphate hydrolases, GTPases) 是膜动力学和运输的重要调节剂之一，Wu 等^[33]发现在脂肪细胞中 AKT 底物 160 KDa (AKT substrate 160KDa, AS160) 作为 Rab8a GTPase 激活蛋白，能够通过 AS160-Rab8a-Fsp27 形成三元复合体促进 LD 融合；哺乳动物抑制因子 Sec4 (mammalian suppressor of Sec4, MSS4) 作为 Rab8a 的鸟嘌呤核苷酸交换因子 (guanine nucleotide exchange factor, GEF)，可负向调控 LD 融合过程；由此提出了 LD 融合的 Rab8a-Fsp27-AS160-MSS4 调控通路。Qian 等^[34]发现脂肪组织中组蛋白去乙酰化酶 6 (histone deacetylases 6, HDAC6)，能够降低 P300/CBP 相关因子 (PCAF) 在 K56 处对 Fsp27 的乙酰化修饰，从而降低了其稳定性及促进 LD 融合和生长的活性；此外，脂肪酸可以通过破坏 ER 上的 Fsp27 和 HDAC6 之间的相互作用而诱导 Fsp27 乙酰化，促进 LD 融合。

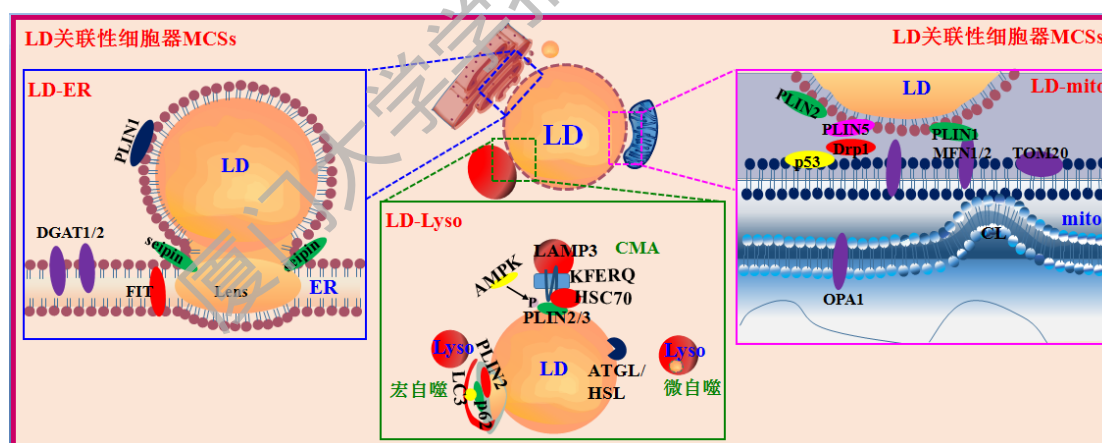
1.4 LD分裂

Long 等^[35]通过延时成像共聚焦显微镜观察到对数生长期的裂变酵母细胞中两个球形 LD 中间存在哑铃状 LD 这种中间体，提示在没有观察到 LD 融合的情况 (预先不是存在两个彼此相邻的 LD) 下，这些中间体分裂成小 LD 的可能性更高；由此，将这种预先存在的 LD 分裂产生两个独立 LD 的过程定义为脂滴分裂 (lipid droplet fission)。在哺乳动物细胞中也有类似的事件，Marcinkiewicz 等

^[36]发现在腺苷酸环化酶激活剂 Forskolin 和 IBMX 刺激的 3T3-L1 细胞中,由蛋白激酶 A 介导的 PLIN1 丝氨酸 492 位点的磷酸化 (p-PLIN1^{Ser492}) 能够促进 LD 分裂, 表现为观察到小 LD 密集地聚集。研究表明 LD 分裂形成的微脂滴(mLD)是由脂质分解诱导的。Paar 等^[30]发现在含 Forskolin(10 μmol/L) 的促脂质分解培养基中, 3T3-L1 细胞中 LD 内的中性脂质迅速代谢形成脂肪酸, 促进 mLD 迅速形成并散布到细胞质, 表明 LD 组分中的脂质分解有利于促进 LD 分裂。Hashimoto 等^[37]的研究表明棕榈酸酯处理的 3T3-L1 细胞中, 在 LD 上出现许多 CGI-58 和 ATGL 共定位, 促进 LD 中 TG 转变成脂肪酸产生 mLD, 因此, LD 分裂对 LDQC 的动态调控与 LD 组分的脂质分解有关。目前, 判断 LD 动态处于融合还是分裂状态还存在挑战。

2 LD与多细胞器相互作用参与脂质稳态调控的效应

LD 除了单一细胞器本身的 LDQC 调节, 还可通过与其他多个细胞器之间通讯参与细胞脂质稳态的调控。Valm 等^[38]通过荧光成像技术, 追踪非洲绿猴成纤维细胞中包括 LD 在内的六种不同细胞器之间多样化接触、及其频率和位置, 结果表明每个细胞器在三维空间中具有独特的特征分布、分散方式、和细胞器间的接触模式。Krahmer 等^[39]运用细胞器蛋白质组学和磷酸化蛋白质组学技术, 分析高脂饮食诱导的非酒精性脂肪肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 小鼠肝细胞中的 MCSs、以及细胞器间的蛋白-蛋白互作, 发现 LDQC 中 LD 的生长伴随其表面扩张和为具有疏水基团的蛋白提供结合位点, 从而影响其与线粒体、ER、溶酶体等 LD 关联性细胞器 MCSs 的形成 (图 2), 参与细胞脂质稳态的调控。



LD: 脂滴; MCSs: 膜接触位点; ATGL: 脂肪甘油三酯脂肪酶; HSL: 激素敏感性脂肪酶; ER: 内质网; Lyso: 溶酶体; mito: 线粒体; PLIN1-5: 围脂滴蛋白 1-5; DGAT1/2: 二酰基甘油酰基转移酶; seipin: 先天性脂肪营养不良基因相关蛋白; FIT: 脂肪沉积诱导性跨膜蛋白; Lens: (脂滴发生)晶状体; CMA: 分子伴侣介导自噬; LAMP3: 溶酶体关联膜蛋白 3; KFERQ: HSC70 五肽基序; AMPK: AMP 活化蛋白激酶; HSC70: 热休克同源蛋白 70; Drp1: 动力相关蛋白 1; MFN1/2: 线粒体融合蛋白 1 和 2; TOM20: 线粒体外膜转位酶 20; OPA1: 神经萎缩症蛋白 1; CL: 心磷脂。

图 2 脂滴关联性细胞器膜接触位点介导细胞器间通讯调控示意图

Fig. 2 Schematic diagram for the lipid droplet-associated membrane contact sites involved in the regulation of interorganellar communication

2.1 LD与ER的相互作用

在 ER 生成 LD 的过程中,LD 与 ER 之间可通过 MCSs,即 LD 膜表面与 ER 膜之间的连接部位,将 ER 中形成的 TG 等中性脂质掺入到 LD 中^[40-41]。Wilfling 等^[41]的研究表明油酸处理的果蝇 S2 胚胎细胞中,通过 LD 表面二磷酸腺苷-核糖基化因子 1 (ADP-ribosylation factor 1, ARF1) /衣壳蛋白 I (coat protein complex I, COP-I) 的蛋白复合物形成,促进生成纳米级 LD (直径约 60 nm),进一步通过降低 LD 表面磷脂成分磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺,减少磷脂层促使 LD 发生融合,增加 LD 表面张力和促进与 ER 的多个 MCSs 形成,从而触发 LD 扩增。Salo 等^[42]发现引起 BSCL2 的基因相关蛋白 seipin 有助于将新形成的 LD 连接于 ER,参与和稳定 MCSs 组成和接触,并促进 LD 相关蛋白募集和中性脂质掺入到生长的 LD 中;在 CRISPR/Cas9 敲除 seipin 的人表皮癌 A431 细胞和 BSCL2 患者(表现 *Seipin* 截短突变)中,出现 ER 与 LD 的 MCS 完全缺失(没有直接接触的膜连续性),从 ER 到 LD 的中性脂质递送减少,并且伴随细胞中脂肪酸进入到中性脂质合成减少而导致合成缺陷,产生少量巨大 LD 和大量小 LD,ER 与 LD 的 MCSs 组成和接触的缺失促使 BSCL2 患者中几乎不存在脂肪组织。近期研究发现了 ER-LD 之间 MCS 形成新的调控机制,Xu 等^[43]发现 Rab18 招募 ER 相关蛋白 NRZ 复合物(NAG, RINT1, ZW10)在 LD 表面与 ER 可溶性 NSF 附着蛋白受体(soluble NSF attachment protein receptor, SNARE)复合物成员(Stx1, Use1, BNIP1)相互作用,介导 ER-LD 的 MCS 形成,促进 TG 从 ER 向 LD 的运输;由此阐明了经由 Rab18-NRZ-SNARE 复合物通过建立 MCSs 接触以促进 LD 生长的关键蛋白质分子机器。Li 等^[44]发现油酸诱导 3T3-L1 等细胞中 LD 生成;ER 定位的包含双重 FYVE 蛋白 1(double FYVE-containing protein 1,DFCP1)与 Rab18-ZW10 复合物相互作用,介导 ER-LD 的 MCS 形成,从而调节 LD 大小;由此揭示了由 DFCP1 介导 ER-LD 互作参与 LDQC 调控的 LD 早期形成过程。

2.2 LD与线粒体的相互作用

LD 和线粒体膜接触部位在功能学上参与线粒体的脂肪酸运输和 β 氧化。Jagerstrom 等^[45]发现在油酸处理的 NIH 3T3 成纤维细胞中,分布在细胞质的突触体相关蛋白 23 (synaptosomal-associated protein 23, SNAP23) 可以介导 LD 与线粒体膜接触。Strauss 等^[46]进一步证明在进行累进性运动试验的强壮男性受试者的肌肉样本中,发现 SNAP23 与肌肉中 LD 内的 TG 共定位,且 LD 与线粒体发生膜接触,并通过该 MCSs 促进 LD 中中性脂质降解产生的和衍生的脂肪酸进入到邻近线粒体进行 β 氧化产生能量,为探索 SNAP23 在久坐、肥胖和衰老个体中导致脂质代谢受损的机制中的作用提供了线索。Wang 等^[16]在禁食 Wistar 大鼠的心肌细胞中,发现 LD 表面 PLIN5 通过其线粒体定位序列(C 末端最后 20 个氨基酸)诱导线粒体与 LD 的膜接触,抑制 LD 中中性脂质分解;并通过线粒体与 LD 的物理接触促进外源性棕榈酸合成 TG,减少线粒体对脂肪酸的利用,导致细胞内脂毒性增加和造成脂质代谢紊乱。Boutant 等^[47]研究表明高脂饮食的 C57BL/6 小鼠棕色脂肪组织中,发现线粒体融合蛋白 2 (mitofusin 2, Mfn2) 与 LD 表面 PLIN1 之间存在蛋白互作、并可介导线粒体与 LD

的膜接触，促进棕色脂肪组织中脂肪酸进入线粒体进行脂质氧化，以补充电子传递链并产生能量；进一步在 *Mfn2* 基因敲除小鼠中，表现为线粒体与 LD 相互作用减弱，导致线粒体 β 氧化下降和脂肪堆积增加，棕色脂肪组织产热下降。Benador 等^[48]从 12 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠的肩部棕色脂肪组织中，分离出一种由具有更高呼吸酶复合物蛋白质组成的围脂滴线粒体（peridroplet mitochondria, PDM）亚群，与 LD 有明显的膜接触，并存在电子致密结构；这些 PDM 表现为脂肪酸的 β 氧化水平降低、ATP 合成能力增强，由此为 LD 积累和扩增提供足够的能量，直接证明了 LD 与线粒体的结构和功能关联在脂质稳态中的重要作用。正常生理条件下，细胞中 LD 是无定形的，但在人动脉粥样硬化病变中 LD 呈现结晶结构；Mahamid 等^[49]通过低温电子断层扫描技术，观察 S-三苯甲基-L-半胱氨酸处理诱导的有丝分裂阻滞的 HeLa 细胞中，直接表征了 LD-线粒体膜接触位点（平均约 16 nm 间隔），跨 LD 边缘约 400 nm，通过 CE 增强推测该 MCSs 是用于促进磷脂膜合成和用于线粒体呼吸的 TG 代谢产物脂肪酸的转运，进而影响 LD 结构相变。

2.3 LD与溶酶体的相互作用

LD 和溶酶体两个细胞器通常被认为是在细胞脂质代谢中具有不同作用的细胞内区室，其中，LD 在合成代谢途径中通常作为脂质储库，溶酶体通过自噬等通路参与细胞内组分和脂质的分解代谢，二者的功能通讯调节细胞内的脂质稳态^[50]。Gomaschi 等^[51]报道了一种溶酶体酸性脂肪酶（lysosomal acid lipase, LAL）能够将 LD 中 TG 和 CE 分解成游离脂肪酸和游离胆固醇，用于细胞中代谢。Tsai 等^[52]表明 *PLIN2* 基因敲除的小鼠肝细胞 AML-12 细胞中，LC3-II 显著增加，是经由 LAL 的自噬通路促进宏自噬增强、并促进肝脏的肝细胞中 TG 降解，导致 LD 的减少。Ras 相关蛋白 7（Ras-related protein 7, Rab7），是 LD 表面的主要蛋白之一，在 LDQC 和脂质稳态中能够促进脂自噬的发生^[53-54]。Huh7 细胞在饥饿诱导条件下，LD 表面 Rab7 通过 Rab7 相互作用溶酶体蛋白（Rab7-interacting lysosomal protein, RILP）与微管动力蛋白复合物连接，介导 LD 与溶酶体间形成膜间的“突触”，促进 LD 和溶酶体的相互作用，促进脂自噬^[55]。更多的研究显示 LD 与溶酶体间是一种物理接触；Lizaso 等^[56]采用慢病毒质粒转染敲低 Rab7 的 3T3-L1 细胞，发现经由 β 2 肾上腺素能受体（ β 2-adrenergic receptor, ADRB2）-cAMP 通路，导致靶向 LD 降解的溶酶体介导脂自噬降低，验证了 Rab7 在溶酶体依赖性脂自噬中的作用，表明 Rab7 能够调节细胞中溶酶体介导的 LD 脂质自噬性降解和 LDQC。

脂自噬还可以进行细胞内脂质的自噬性降解，被认为是在饥饿条件或其他外源因素条件下脂质分解的形式^[20; 57]。Wang 等^[58]采用刺芒柄花素（一种可改善高脂血症和肥胖症的天然异黄酮），喂养 C57BL/6J 小鼠和处理 HepG2 细胞，发现肝细胞中经由 AMPK 促进转录因子 EB（transcription factor EB, TFEB）从胞质转位入核，诱导溶酶体生物发生，LC3-II 和 LAMP1 的共定位增加，介导脂自噬作用，通过脂质分解抑制 LD 积累，改善肝细胞脂肪变性。Tuohetahuntala 等^[59]为了研究溶酶体在降解 LD 内中性脂质中的作用，采用特异性 LAL 抑制剂 Ialostat 处理肝星状细胞，表明经由 LAL 抑制溶酶体相关脂自噬，可通过减少 TG 和 CE 等中性脂质的分解导致 LD 积累，减弱了肝星状细胞的激活，缓解肝纤维化的发展。

3 外源因素经由LDQC及其信号通路诱导脂毒性

LD 的结构（如直径大小、分布、位置等）及其相关蛋白组成等特性，可评价外源因素对 LDQC 和细胞脂质稳态的动态调控；环境因素的暴露，如能量（禁食/喂养）供给和诱导性损伤过程（病毒感染、脂肪性肝病等），可表现 LD 的动态变化^[26, 60]。已有研究关注于不同外源因素暴露经由 LDQC 及其相关多细胞器通讯网络介导细胞脂质稳态失调或脂毒性转归等的调控，成为脂肪肝、肥胖症和糖尿病、肝硬化等脂质代谢相关疾病的发病机制和靶向干预的新思路和方向。

3.1 酒精经由LDQC和脂质稳态调节介导肝细胞毒性损伤

酒精可以通过调控 LD 形成、融合或降解等过程诱导过量 LD 积聚，从而引起肝脏脂肪变性，造成酒精性脂肪性肝病（alcoholic fatty liver disease, AFLD）^[61]。Zhu 等^[62]发现酒精刺激增强细胞色素 P450 1A2（cytochrome P450, CYP1A2）抑制磷酸酯酶与张力蛋白同源物（phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome ten, PTEN），诱导糖代谢相关的蛋白激酶 B（protein kinase B, PKB）和胆固醇调节原件结合蛋白（sterol-regulatory element binding proteins, SREBP-1c）过表达，从而通过 PTEN/PKB/SREBP-1c 途径参与到肝细胞脂质代谢异常过程，促进 AFLD 的发生发展。Xu 等^[63]给 C57BL/6N 雄性小鼠长期（8 周）喂养酒精使小鼠产生严重的酒精性脂肪肝炎和轻度纤维化，表明小鼠肝细胞中 *Fsp27* 基因表达经由过氧化物酶体增殖剂激活受体 γ （peroxisome proliferators-activated receptor γ , PPAR γ ）和 cAMP 应答元件结合蛋白 H（cyclic AMP-responsive element binding protein H, CREBH）通路上调，LD 增大，肝脏脂肪变性范围在 20%~80%，并且诱导小鼠肝细胞中线粒体活性氧产生，Bax 易位至线粒体和细胞色素 C 释放信号介导的凋亡；进一步提取肝组织细胞内线粒体组分检测到 LD 表面蛋白 *Fsp27* 的表达，提示 LD 与线粒体间的相互邻近可经由 LDQC 调控细胞内脂质代谢紊乱介导的肝细胞毒性损伤。Gu 等^[64]研究发现 *PLIN3* 基因敲低加剧酒精处理的 AML12 小鼠肝细胞 ER 中 TG 蓄积，诱导蛋白激酶 R 样 ER 激酶（protein kinase R-like ER kinase, PERK）通路介导的 ER 应激和 caspase 信号依赖性细胞凋亡；进一步证实沿 ER 双层膜的胞质侧分布的 *PLIN3* 在 LD 表面募集，并通过 LD 表面 *PLIN3* 和胞质的动力蛋白 1 中间链 1（dynein 1 intermediate chain 1, DYNC1H1）共定位，介导从 LD-ER 的 MCS 中生成 LD；酒精经由细胞骨架破坏 LD 沿微管的运输，导致过量 LD 在胞质中积聚，LD 组分 TG 在胞质中增加，诱导 ER 应激介导的细胞凋亡，最终导致酒精性肝损伤。

LD 生命周期中的动态移动主要依赖于微管；Groebner 等^[65]研究表明酒精暴露促进肝癌来源的 WIF-B 杂交细胞株中， α -微管蛋白受微管蛋白特异性乙酰转移酶 1（tubulin-specific acetyltransferase 1, α TAT1）高度乙酰化，促使沿微管运动的 LD 呈现静止状态，抑制 LD 融合以及与线粒体、溶酶体间的通讯，导致 LD 数量增多和体积增大，结果意味着通过改变 LD-微管相互作用和 LD 运动改变 LDQC，进而引起肝细胞脂质代谢紊乱，介导肝损伤的产生。Eid 等^[66]给予 Wistar 大鼠含 5% 乙醇饮食（Lieber-DeCarli 流质饮食）暴露 10 周，发现肝细胞表现出明显的脂肪变性，透射电镜进一步观察

到肝细胞中大量的巨大 LD（直径 $>2.0\ \mu\text{m}$ ）和线粒体受损（分裂且形态异常）；LC3 和 LAMP2 共分布于 LD，验证了 LD 与溶酶体的相互作用能够在急性酒精性脂肪肝中减少脂质增加，由此缓解脂质蓄积在肝脏中介导的毒性损伤。在慢性酒精性脂肪肝中，LD 与溶酶体相互作用的抑制可导致严重的肝损伤和肝细胞凋亡；给予 C57BL/6N 雄性小鼠含乙醇的食物（Lieber-DeCarli 82 饲料，含 5% 乙醇）饲养 10 d，发现肝细胞中雷帕霉素靶蛋白（mammalian target of rapamycin, mTOR）向溶酶体转位分布增加，使溶酶体生成减少（核 TFEB 水平降低），溶酶体依赖性脂自噬对 LD 的降解减少，加剧 LD 积聚引起的脂质代谢紊乱诱导的肝损伤，表明了 TFEB 介导的溶酶体生物发生是抵抗酒精引起的 LD 积聚的关键保护机制^[67-68]。综上可见，LD 数量、形态、运动，以及 LD 和其他细胞器间接/直接的相互作用等变化参与酒精性肝损伤的动态调节过程(图 1)。

3.2 丙型肝炎病毒感染经由LDQC调节脂质稳态和损伤

丙型肝炎病毒（hepatitis C virus, HCV）属正链RNA病毒，病毒RNA共产生 10 种蛋白，包括核心蛋白、包膜蛋白 1/2（envelope proteins 1/2, E1/2）、非结构蛋白 5A（non-structural 5A, NS5A）等，共同参与HCV病毒颗粒的生成和嗜肝性感染诱导的病毒性肝炎及损伤。HCV感染的病理特征之一包括导致脂肪变性的肝细胞中LD积累，且成为肝硬化发展和肝致癌作用的重要危险因素^[69]。Meng等^[70]研究发现NS5A在体内和体外抑制AMPK磷酸化，并增加SREBP-1c、乙酰辅酶A羧化酶 1（acetyl-coenzyme A carboxylase 1, ACC1）和脂肪酸合酶（fatty acid synthase, FASN）的表达水平，诱导细胞内经由ER生成LD；AMPK药理激活可改善NS5A诱导的肝脂质蓄积，提示NS5A通过AMPK/SREBP-1c活化途径诱导ER-LD互作介导肝脂质蓄积。Piodi等^[71]研究不同基因型核心序列HCV诱导的肝细胞内LD形态变化及其与脂肪变性的关系，发现HCV基因型 3a转染的Huh7 细胞中，核心蛋白在细胞内LD表面分布和LD中包含更多的中性脂质（TG等），表明HCV经由核心蛋白-LD互作调节病毒诱导的肝细胞LD形态改变介导的脂肪变性。Singaravelu等^[72]在稳定表达HCV基因型 1b的Huh7.5 细胞系中则发现，HCV复制经由磷脂酰肌醇-3-激酶（phosphoinositide-3-kinase, PI3K）通路诱导微小RNA27（miR27）过表达、抑制PPAR α ，可转录激活与脂肪酸氧化相关基因的脂质分解信号通路，从而诱导细胞内TG的积累、LD体积增大、数量增多，导致脂质代谢紊乱（图 1）。

HCV还能经由影响LD相关多细胞器功能来促进HCV病毒颗粒的生成。Herker等^[73]在转染HCV核心蛋白的293T细胞中，发现ER驻留DGAT与核心蛋白相互作用，是其分布到LD表面所必需的，提示ER-LD的相互作用介导的大量LD生成可为HCV病毒颗粒的产生提供有效的平台；采用DGAT抑制剂或RNAi介导DGAT敲低进行验证，有效降低中性脂质（TG、CE等）含量和LD数量，抑制感染性HCV病毒颗粒的产生。Lee等^[74]发现转染HCV基因组的Huh7细胞中，E2与NS5A蛋白结合于LD周围ER膜，通过ER“捕获”LD形成的MCSs（每个细胞中15%的LD具有与ER的MCS），从而进行HCV复制和促进HCV病毒颗粒的生成。Ploen等^[75]发现HCV病毒基因组的复制发生在Huh7.5细胞ER膜的细胞质面上，进而通过NS5A结合PLIN3的N-末端PAT结构域，在LD表面上组装HCV和增加HCV的病毒复制。已报道病毒（如HCV、登革病毒等）可通过促进ER-LD相互作用和MCS的形成促进LD生成来作为病毒颗粒产生的平台，从而诱导病毒性肝炎及损伤^[76]。

然而，在病毒大量复制和扩增的过程中的 LD 合成，是否受 LD、ER 以外的其他细胞器共同调控还尚待进一步研究。

3.3 双酚A经由LDQC和脂质稳态调节细胞脂肪变性

双酚 A (bisphenol A, BPA) 是一种环境雌激素，广泛用于包含聚碳酸酯塑料和环氧树脂的消费品中；经由饮食等途径造成生物体和/或人群的暴露，具有内分泌干扰作用^[77-78]。在 RTL-W1 虹鳟鱼肝细胞系中，BPA 通过 FATP1/FAS 脂质代谢活化途径激活脂肪酸摄取，增加细胞中 LD 内 TG 和 CE 的形成，有助于 LD 的生长^[79]。采用 3T3-L1 细胞给予 BPA (1 nmol/L) 培养三周以模拟人类环境暴露，脂肪组织中脂肪细胞因 LD 脂质组分的储存和代谢功能的失调影响细胞分化，从而参与代谢性疾病(如肥胖症和糖尿病等)的发生发展过程，表现为细胞内 LD 积聚、增大，经由 PPAR γ 和脂肪酸结合蛋白 4 (fatty acid-binding protein 4, FABP4) 介导的脂质合成信号，导致细胞中 LD 内中性脂质蓄积、胰岛素信号传导受损、葡萄糖利用率降低，降低脂肪细胞分化，引起脂肪细胞糖脂代谢功能障碍，从而增加患肥胖相关疾病的风险^[80]。在大鼠 FaO 肝癌细胞(一种高度分化的肝癌细胞系)中，BPA (0.3, 3, 30, 300 ng/mL) 暴露通过抑制脂质氧化途径，包括 PPAR α/β 、酰基辅酶 A 氧化酶 (acyl-CoA oxidase, AOX) 和肉碱棕榈酰基转移酶 (carnitine palmitoyl transferase, CPT) 以及分泌(如载脂蛋白 B, apolipoprotein, apoB) 通路，介导脂质代谢紊乱，增加细胞内 TG 含量和 LD 积累从而诱导肝损伤^[81] (图 1)。

外源因素介导的细胞内脂质稳态以及毒性/损伤结局，除了受 LD 动态平衡的调控，也与 LD 和其他细胞器的相互作用有关。BPA 处理的 HEK 293T 细胞、宫颈癌 HeLa 细胞和小鼠胚胎成纤维(MEF)细胞中，通过抑制囊泡相关膜蛋白 8 (vesicle-associated membrane protein 8, VAMP8) 的 SNARE 复合物的信号通路，抑制突触融合蛋白 17 (syntaxin17, Stx17) 向溶酶体转运，引起 LD 与溶酶体融合缺陷，使 LD 和溶酶体的相互作用减少，导致 LD 积累介导的细胞内脂质代谢紊乱^[82]。C57BL/6 小鼠给予 BPA (50, 500 μ g/kg) 经口暴露 16 周，可降低肝细胞中胆固醇调节元件结合蛋白 2 (sterol-regulatory element binding proteins 2, SREBP2) 基因的 DNA 甲基化水平，诱导小鼠肝组织中 LD 内胆固醇过度合成，肝细胞中 LD 面积增加，经由 LDQC 的改变介导脂质代谢紊乱和最终导致肝脏脂肪变性^[83]。线粒体功能损伤对于 LD-线粒体间的脂肪酸转运，代谢失调具有重要调节作用。Wistar 大鼠给予低剂量 BPA (50 μ g/kg) 长期 (38 周) 饮水暴露，发现肝脏中线粒体生物发生的主要调控因子增殖激活受体 γ 激活因子 1 α (PGC1 α) 的表达下调、以及动力相关蛋白 1 (dynamin related protein 1, Drp1) 的上调，线粒体碎片化增加，LD-线粒体间脂肪酸 β 氧化受抑制，促进 LD 内 TG 组分的增加，诱导 LD 积累和促进肝脏脂肪变性^[84]。已有文献报道 BPA 诱导的脂质代谢紊乱中，线粒体与 LD 之间的间接作用^[85]，因此，深入探讨相关细胞器间的 MCS 参与 LDQC 及其动态调控的研究，可为外源物环境暴露诱导的毒性损伤和相关疾病中机制探明和干预提供依据。

4.总结与展望

综上, LDQC 的结构、功能和调控日益受到重视。Schott 等^[86]在原代大鼠肝细胞中发现 ATGL 依赖性的脂解作用优先靶向大直径 LD, 而小 LD 优先被溶酶体和/或晚期内体中的酸性脂肪酶分解代谢, 提示 LDQC 介导肝细胞中脂解和脂自噬的分解代谢。在 LD 的结构研究方面, 已有研究表明 LD 结构受到多细胞器蛋白分子机器调节, LD 的大小和数量受到相关蛋白介导的生物学过程的调节, 包括中性脂质合成代谢、LD 融合分裂和自噬介导的 LD 降解; 提示探究外源因素介导的 LDQC 中蛋白分子机器的调节机制成为一个热点话题。同时, LD 相关蛋白的翻译后修饰(例如蛋白磷酸酶 2A 介导的去磷酸化调控)、LD 组分代谢介导的脂毒性、脂质代谢相关的调节性细胞死亡(如铁死亡等)、以及新技术(如活细胞荧光成像、冰冻电子断层扫描在结构生物学领域的三维重构技术等)的发展等, 促进了 LDQC 中蛋白分子机器的进一步研究, 并在探究从 LD 蛋白组及其磷酸化改变的调控, 甚至于 LD 关联性多细胞器网络蛋白之间相互作用、大分子蛋白复合物三维结构及其对多细胞器网络的动态调控机制等领域有了新的进展^[87]。

LD 动态调控和蛋白靶点在代谢相关疾病中的作用有待关注。Kounakis 等^[88]阐述了脂自噬在肥胖、酒精性脂肪肝、非酒精性脂肪肝、肝纤维化与癌症等中的新兴作用, 揭示了 LD 生物学和人类健康与疾病的微妙平衡; Henne 等^[89]阐述了 LD、溶酶体和 ER 三者间的相互作用在脂质转运和细胞稳态中的作用。因此, 外源因素作用下经由 LDQC 及其相关 MCS 调控机制的作用成为研究的热点, 深入探究 LD 功能动态调节的分子机制, 将为预防和控制外源因素暴露诱导的脂质代谢相关毒性损伤和疾病等提供潜在的干预靶点。

参考文献:

- [1] GAO M, HUANG X, SONG B L, et al. The biogenesis of lipid droplets: lipids take center stage[J]. Prog. Lipid Res., 2019, 75: 100989.
- [2] BOSCHI F, RIZZATTI V, ZAMBONI M, et al. Models of lipid droplets growth and fission in adipocyte cells[J]. Exp Cell Res, 2015, 336(2): 253-262.
- [3] CERPELLI S, GUO Y, GROSS S P, et al. The lipid-droplet proteome reveals that droplets are a protein-storage depot[J]. Curr Biol, 2006, 16(18): 1783-1795.
- [4] SHIOZAKI M, HAYAKAWA N, SHIBATA M, et al. Closer association of mitochondria with lipid droplets in hepatocytes and activation of Kupffer cells in resveratrol-treated senescence-accelerated mice[J]. Histochem Cell Biol, 2011, 136(4): 475-489.
- [5] ANZELL A R, MAIZY R, PRZYKLENK K, et al. Mitochondrial quality control and disease: insights into ischemia-reperfusion injury[J]. Mol Neurobiol, 2018, 55(3): 2547-2564.
- [6] NI H M, WILLIAMS J A, DING W X. Mitochondrial dynamics and mitochondrial quality control[J]. Redox Biol, 2015, 4: 6-13.
- [7] WALLSTAB C, ELEFTHERIADOU D, SCHULZ T, et al. A unifying mathematical model of lipid droplet metabolism reveals key molecular players in the development of hepatic steatosis[J]. FEBS J, 2017, 284(19): 3245-3261.
- [8] OHSAKI Y, SUZUKI M, FUJIMOTO T. Open questions in lipid droplet biology[J]. Chem Biol, 2014, 21(1): 86-96.

- [9] KHOR V K, SHEN W J, KRAEMER F B. Lipid droplet metabolism[J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2013, 16(6): 632-637.
- [10] CHOUDHARY V, OJHA N, GOLDEN A, et al. A conserved family of proteins facilitates nascent lipid droplet budding from the ER[J]. *J Cell Biol*, 2015, 211(2): 261-271.
- [11] WALTHER T C, CHUNG J, FARESE R V. Lipid droplet biogenesis[J]. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 2017, 33: 491-510.
- [12] POL A, GROSS S P, PARTON R G. Review: biogenesis of the multifunctional lipid droplet: lipids, proteins, and sites[J]. *J Cell Biol*, 2014, 204(5): 635-646.
- [13] PAGAC M, COOPER D E, QI Y, et al. SEIPIN regulates lipid droplet expansion and adipocyte development by modulating the activity of glycerol-3-phosphate acyltransferase[J]. *Cell Rep*, 2016, 17(6): 1546-1559.
- [14] BEN M'BAREK K, AJAJI D, CHORLAY A, et al. ER Membrane phospholipids and surface tension control cellular lipid droplet formation[J]. *Dev Cell*, 2017, 41(6): 591-604.
- [15] BOLSONI-LOPES A, ALONSO-VALE M I. Lipolysis and lipases in white adipose tissue: an update[J]. *Arch Endocrinol Metab*, 2015, 59(4): 335-342.
- [16] WANG H, SREENIVASAN U, HU H, et al. Perilipin 5, a lipid droplet-associated protein, provides physical and metabolic linkage to mitochondria[J]. *J Lipid Res*, 2011, 52(12): 2159-2168.
- [17] LISTENBERGER L L, OSTERMEYER-FAY A G, GOLDBERG E B, et al. Adipocyte differentiation-related protein reduces the lipid droplet association of adipose triglyceride lipase and slows triacylglycerol turnover[J]. *J Lipid Res*, 2007, 48(12): 2751-2761.
- [18] IGARASHI M, OSUGA J, UOZAKI H, et al. The critical role of neutral cholesterol ester hydrolase 1 in cholesterol removal from human macrophages[J]. *Circ Res*, 2010, 107(11): 1387-1395.
- [19] MCLAREN J E, MICHAEL D R, SALTER R C, et al. IL-33 reduces macrophage foam cell formation[J]. *J Immunol*, 2010, 185(2): 1222-1219.
- [20] SINGH R, KAUSHIK S, WANG Y, et al. Autophagy regulates lipid metabolism[J]. *Nature*, 2009, 458(7242): 1131-1135.
- [21] MARTINEZ-LOPEZ N, GARCIA-MACIA M, SAHU S, et al. Autophagy in the CNS and periphery coordinate lipophagy and lipolysis in the brown adipose tissue and liver[J]. *Cell Metab*, 2016, 23(1): 113-127.
- [22] IRUNGBAM K, CHURIN Y, MATONO T, et al. Cannabinoid receptor 1 knockout alleviates hepatic steatosis by downregulating perilipin 2[J]. *Lab Invest*, 2020, 100(3): 454-465.
- [23] KAUSHIK S, CUERVO A M. Degradation of lipid droplet-associated proteins by chaperone-mediated autophagy facilitates lipolysis[J]. *Nat Cell Biol*, 2015, 17(6): 759-770.
- [24] KAUSHIK S, CUERVO A M. The coming of age of chaperone-mediated autophagy[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(6): 365-381.
- [25] KAUSHIK S, CUERVO A M. AMPK-dependent phosphorylation of lipid droplet protein PLIN2 triggers its degradation by CMA[J]. *Autophagy*, 2016, 12(2): 432-438.
- [26] GONG J, SUN Z, WU L, et al. Fsp27 promotes lipid droplet growth by lipid exchange and transfer at lipid droplet contact sites[J]. *J Cell Biol*, 2011, 195(6): 953-963.
- [27] ROBENEK H, SEVERS N J. Lipid droplet growth by fusion: insights from freeze-fracture imaging[J]. *J Cell Mol Med*, 2009, 13(11/12): 4657-4661.

- [28] SLAYTON M, GUPTA A, BALAKRISHNAN B, et al. CIDE proteins in human health and disease[J]. *Cells*, 2019, 8(3).
- [29] WU L, ZHOU L, CHEN C, et al. Cidea controls lipid droplet fusion and lipid storage in brown and white adipose tissue[J]. *Sci China Life Sci*, 2014, 57(1): 107-116.
- [30] PAAR M, JUNGST C, STEINER N A, et al. Remodeling of lipid droplets during lipolysis and growth in adipocytes[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(14): 11164-11173.
- [31] BARNEDA D, PLANAS-IGLESIAS J, GASPAR M L, et al. The brown adipocyte protein CIDEA promotes lipid droplet fusion via a phosphatidic acid-binding amphipathic helix[J]. *Elife*, 2015, 4: 74-85.
- [32] SUN Z, GONG J, WU H, ET AL. Perilipin1 promotes unilocular lipid droplet formation through the activation of Fsp27 in adipocytes[J]. *Nat Commun*, 2013, 4: 1594.
- [33] WU L, XU D, ZHOU L, et al. Rab8a-AS160-MSS4 regulatory circuit controls lipid droplet fusion and growth[J]. *Dev Cell*, 2014, 30(4): 378-393.
- [34] QIAN H, CHEN Y, NIAN Z, et al. HDAC6-mediated acetylation of lipid droplet-binding protein CIDEA regulates fat-induced lipid storage[J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(4): 1353-1369.
- [35] LONG A P, MANNESCHMIDT A K, VERBRUGGE B, et al. Lipid droplet de novo formation and fission are linked to the cell cycle in fission yeast[J]. *Traffic*, 2012, 13(5): 705-714.
- [36] MARCINKIEWICZ A, GAUTHIER D, GARCIA A, et al. The phosphorylation of serine 492 of perilipin a directs lipid droplet fragmentation and dispersion[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(17): 11901-11909.
- [37] HASHIMOTO T, SEGAWA H, OKUNO M, et al. Active involvement of micro-lipid droplets and lipid-droplet-associated proteins in hormone-stimulated lipolysis in adipocytes[J]. *J Cell Sci*, 2012, 125(Pt 24): 6127-6136.
- [38] VALM A M, COHEN S, LEGANT W R, et al. Applying systems-level spectral imaging and analysis to reveal the organelle interactome[J]. *Nature*, 2017, 546(7656): 162-167.
- [39] KRAHMER N, NAJAFI B, SCHUEDER F, et al. Organellar proteomics and phospho-proteomics reveal subcellular reorganization in diet-induced hepatic steatosis[J]. *Dev Cell*, 2018, 47(2): 205-221.
- [40] WALTHER T C, CHUNG J, FARESE R V, JR. Lipid droplet biogenesis[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2017, 33: 491-510.
- [41] WILFLING F, WANG H, HAAS J T, et al. Triacylglycerol synthesis enzymes mediate lipid droplet growth by relocating from the ER to lipid droplets[J]. *Dev Cell*, 2013, 24(4): 384-399.
- [42] SALO V T, BELEVICH I, LI S, et al. Seipin regulates ER-lipid droplet contacts and cargo delivery[J]. *EMBO J*, 2016, 35(24): 2699-2716.
- [43] XU D, LI Y, WU L, et al. Rab18 promotes lipid droplet (LD) growth by tethering the ER to LDs through SNARE and NRZ interactions[J]. *J Cell Biol*, 2018, 217(3): 975-995.
- [44] LI D, ZHAO Y G, LI D, et al. The ER-localized protein DFCEP1 modulates ER-lipid droplet contact formation[J]. *Cell Rep*, 2019, 27(2): 343-358.
- [45] JAGERSTROM S, POLESIE S, WICKSTROM Y, et al. Lipid droplets interact with mitochondria using SNAP23[J]. *Cell Biol Int*, 2009, 33(9): 934-40.
- [46] STRAUSS J A, SHAW C S, BRADLEY H, et al. Immunofluorescence microscopy of SNAP23 in human skeletal muscle reveals colocalization with plasma membrane, lipid droplets, and mitochondria[J]. *Physiol Rep*, 2016, 4(1).
- [47] BOUTANT M, KULKARNI S S, JOFFRAUD M, et al. Mfn2 is critical for brown adipose tissue thermogenic function[J].

EMBO J, 2017, 36(11): 1543-1558.

[48] BENADOR I Y, VELIOVA M, MAHDAVIANI K, et al. Mitochondria bound to lipid droplets have unique bioenergetics, composition, and dynamics that support lipid droplet expansion[J]. Cell Metab, 2018, 27(4): 869-885.

[49] MAHAMID J, TEGUNOV D, MAISER A, et al. Liquid-crystalline phase transitions in lipid droplets are related to cellular states and specific organelle association[J]. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 2019.

[50] DUGAIL I. Lysosome/lipid droplet interplay in metabolic diseases[J]. Biochimie, 2014, 96: 102-105.

[51] GOMARASCHI M, BONACINA F, NORATA G D. Lysosomal acid lipase: from cellular lipid handler to immunometabolic target[J]. Trends Pharmacol Sci, 2019, 40(2): 104-115.

[52] TSAI T H, CHEN E, LI L, et al. The constitutive lipid droplet protein PLIN2 regulates autophagy in liver[J]. Autophagy, 2017, 13(7): 1130-1144.

[53] FENG Y, PRESS B, CHEN W, et al. Expression and properties of Rab7 in endosome function[J]. Methods Enzymol, 2001, 329: 175-187.

[54] VONDERHEIT A, HELENIUS A. Rab7 associates with early endosomes to mediate sorting and transport of Semliki forest virus to late endosomes[J]. PLoS Biol, 2005, 3(7): 233.

[55] SCHROEDER B, SCHULZE R J, Weller S G, et al. The small GTPase Rab7 as a central regulator of hepatocellular lipophagy[J]. Hepatology, 2015, 61(6): 1896-907.

[56] LIZASO A, TAN K T, LEE Y H. β -Adrenergic receptor-stimulated lipolysis requires the RAB7-mediated autolysosomal lipid degradation[J]. Autophagy, 2013, 9(8): 1228-1243.

[57] DUBLAND J A, FRANCIS G A. Lysosomal acid lipase: at the crossroads of normal and atherogenic cholesterol metabolism[J]. Front Cell Dev Biol, 2015, 3: 3.

[58] WANG Y, ZHAO H, LI X, et al. Formononetin alleviates hepatic steatosis by facilitating TFEB-mediated lysosome biogenesis and lipophagy[J]. J Nutr Biochem, 2019, 73: 108-214.

[59] TUOHETAHUNTI M, MOLENAAR M R, SPEE B, et al. Lysosome-mediated degradation of a distinct pool of lipid droplets during hepatic stellate cell activation[J]. J Biol Chem, 2017, 292(30): 12436-12448.

[60] NIAN Z, SUN Z, YU L, et al. Fat-specific protein 27 undergoes ubiquitin-dependent degradation regulated by triacylglycerol synthesis and lipid droplet formation[J]. J Biol Chem, 2010, 285(13): 9604-9615.

[61] CHANG Y, CHO J, CHO Y K, et al. Alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease and incident hospitalization for liver and cardiovascular diseases[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2019.

[62] ZHU Q, HUANG C, MENG X, et al. CYP1A2 contributes to alcohol-induced abnormal lipid metabolism through the PTEN/AKT/SREBP-1c pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 513(2): 509-514.

[63] XU M J, CAI Y, WANG H, et al. Fat-specific protein 27/CIDEA promotes development of alcoholic steatohepatitis in mice and humans[J]. Gastroenterology, 2015, 149(4): 1030-1041.

[64] GU Y, YANG Y, CAO X, et al. Plin3 protects against alcoholic liver injury by facilitating lipid export from the endoplasmic reticulum[J]. J. Cell. Biochem., 2019, 120(9): 16075-16087.

[65] GROEBNER J L, GIRON-BRAVO M T, ROTHBERG M L, et al. Alcohol-induced microtubule acetylation leads to the accumulation of large, immobile lipid droplets[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2019.

[66] EID N, ITO Y, MAEMURA K, et al. Elevated autophagic sequestration of mitochondria and lipid droplets in steatotic

hepatocytes of chronic ethanol-treated rats: an immunohistochemical and electron microscopic study[J]. *J Mol Histol*, 2013, 44(3): 311-326.

[67] CHAO X, WANG S, ZHAO K, et al. Impaired TFEB-mediated lysosome biogenesis and autophagy promote chronic ethanol-induced liver injury and steatosis in mice[J]. *Gastroenterology*, 2018, 155(3): 865-879 e12.

[68] THOMES P G, TRAMBLAY C S, FOX H S, et al. Acute and chronic ethanol administration differentially modulate hepatic autophagy and transcription factor EB[J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2015, 39(12): 2354-2363.

[69] FELMLEE D J, BAUMERT T F. Hepatitis C virus co-opts innate immunity component for lipid droplet formation[J]. *J Hepatol*, 2013, 59(5): 1118-1120.

[70] MENG Z, LIU Q, SUN F, et al. Hepatitis C virus nonstructural protein 5A perturbs lipid metabolism by modulating AMPK/SREBP-1c signaling[J]. *Lipids Health Dis*, 2019, 18(1): 191.

[71] PIODI A, CHOUTEAU P, LERAT H, et al. Morphological changes in intracellular lipid droplets induced by different hepatitis C virus genotype core sequences and relationship with steatosis[J]. *Hepatology*, 2008, 48(1): 16-27.

[72] SINGARAVELU R, CHEN R, LYN R K, et al. Hepatitis C virus induced up-regulation of microRNA-27: a novel mechanism for hepatic steatosis[J]. *Hepatology*, 2014, 59(1): 98-108.

[73] HERKER E, HARRIS C, HERNANDEZ C, et al. Efficient hepatitis C virus particle formation requires diacylglycerol acyltransferase-1[J]. *Nat Med*, 2010, 16(11): 1295-1298.

[74] LEE J Y, CORTESE M, HASELMANN U, et al. Spatiotemporal coupling of the hepatitis C virus replication cycle by creating a lipid droplet- proximal membranous replication compartment[J]. *Cell Rep*, 2019, 27(12): 3602-3617 .

[75] PLOEN D, HAFIRASSOU M L, HIMMELSBACH K, et al. TIP47 plays a crucial role in the life cycle of hepatitis C virus[J]. *J Hepatol*, 2013, 58(6): 1081-1088.

[76] RANDALL G. Lipid droplet metabolism during Dengue virus Infection[J]. *Trends Microbiol.*, 2018, 26(8): 640-642.

[77] RUBIN B S. Bisphenol A: an endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2011, 127(1-2): 27-34.

[78] NADAL A. Obesity: fat from plastics? Linking bisphenol A exposure and obesity[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2013, 9(1): 9-10.

[79] DIMASTROGIOVANNI G, CORDOBA M, NAVARRO I, et al. Alteration of cellular lipids and lipid metabolism markers in RTL-W1 cells exposed to model endocrine disrupters[J]. *Aquat Toxicol*, 2015, 165: 277-285.

[80] ARIEMMA F, D'ESPOSITO V, LIGUORO D, et al. Low-dose bisphenol-A impairs adipogenesis and generates dysfunctional 3T3-L1 adipocytes[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): 1507-1562.

[81] GRASSELLI E, CORTESE K, VOCI A, et al. Direct effects of bisphenol A on lipid homeostasis in rat hepatoma cells[J]. *Chemosphere*, 2013, 91(8): 1123-1129.

[82] SONG D, CHEN Y, WANG B, et al. Bisphenol A inhibits autophagosome-lysosome fusion and lipid droplet degradation[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2019, 183: 1094-1092.

[83] LI Q, ZHANG H, ZOU J, et al. Bisphenol A exposure induces cholesterol synthesis and hepatic steatosis in C57BL/6 mice by down-regulating the DNA methylation levels of SREBP-2[J]. *Food Chem Toxicol*, 2019, 133: 1107-1186.

[84] AZEVEDO L F, PORTO DECHANDT C R, CRISTINA DE SOUZA ROCHA C, et al. Long-term exposure to bisphenol A or S promotes glucose intolerance and changes hepatic mitochondrial metabolism in male Wistar rats[J]. *Food Chem*

Toxicol, 2019, 132: 1106-1194.

[85] HUC L, LEMARIE A, GUERAUD F, et al. Low concentrations of bisphenol A induce lipid accumulation mediated by the production of reactive oxygen species in the mitochondria of HepG2 cells[J]. Toxicol In Vitro, 2012, 26(5): 709-717.

[86] SCHOTT M B, WELLER S G, SCHULZE R J, et al. Lipid droplet size directs lipolysis and lipophagy catabolism in hepatocytes[J]. J Cell Biol, 2019, 218(10): 3320-3335.

[87] BECK M, BAUMEISTER W. Cryo-electron tomography: can it reveal the molecular sociology of cells in atomic detail?[J]. Trends Cell Biol., 2016, 26(11): 825-837.

[88] KOUNAKIS K, CHANIOTAKIS M, MARKAKI M, et al. Emerging roles of lipophagy in health and disease[J]. Front Cell Dev Biol, 2019, 7: 185.

[89] HENNE M. And three's a party: lysosomes, lipid droplets, and the ER in lipid trafficking and cell homeostasis[J]. Curr Opin Cell Biol, 2019, 59: 40-49.

Research progress in lipid droplet quality control and its regulation in multiple organelles communication

HUANG Jing, LIN Yuchun, LIN Zhongning*

(State Key Laboratory of Molecular Vaccinology and Molecular Diagnostics, School of Public Health, Xiamen University, Xiamen 361102, China)

Abstract: Lipid droplet (LD) has been served as lipid-storing organelles. In recent years, there are increasing evidences that LDs exhibit active performance in control of lipid homeostasis. Biogenesis and organelle quality control of LD can be mediated by the specific proteins on its surface, and regulate the multi-organelles signal crosstalk via the formation of membrane contact sites (MCSs) between two or more organelles. As the cellular lipid homeostasis regulator, LD takes part in mediating lipid component metabolism and lipotoxicity outcomes caused by exogenous factors. The molecular function design targeted to the lipid droplet quality control (LDQC) could be a new strategy to regulate the damages or diseases related to lipid metabolism. This review mainly describes the regulation of LD-associated proteins in interorganelle communication (between LD and mitochondria, endoplasmic reticulum, and lysosome) via LDQC pathway, and discusses the role of LD dynamics in lipid metabolism and homeostasis in xenobiotics exposed cells.

Key words: lipid droplet; organelle quality control; interorganelle communication; lipid homeostasis; lipotoxicity