



脂滴与其他细胞器互作调控脂稳态的分子机制

刘叶阳^{1†}, 许梦瑶^{2†}, 李蓬^{1,3}, 黄勋^{2*}, 徐俐^{1,3*}

1. 清华大学生命科学学院, 清华大学-北京大学生命科学联合中心, 膜生物学国家重点实验室, 北京 100084;

2. 分子发育国家重点实验室, 中国科学院遗传与发育生物学研究所, 北京 100101

3. 上海期智研究院, 上海 200030

† 同等贡献

* 联系人, E-mail: xhuang@genetics.ac.cn; xulilulu@tsinghua.edu.cn

收稿日期: 2021-04-17; 接受日期: 2021-06-17; 网络版发表日期: 2021-10-26

国家自然科学基金(批准号: 91954207和91854104)和国家重点研发计划(批准号: 2018YFA0506900)资助

摘要 随着影像技术的发展,越来越多的研究表明细胞器之间存在广泛的直接相互作用,其主要功能是参与物质运输、细胞器新生与生长、细胞器分裂与融合等。细胞器间的互作主要由定位于这些膜器表面的蛋白质分子相互作用介导,磷脂也在其中发挥作用。脂滴作为储存中性脂的细胞器,是细胞内脂质代谢的中心,同时对机体脂稳态的维持起着至关重要的作用。从脂质代谢的角度,内质网是多数脂质合成以及新生脂滴生成的场所,线粒体和过氧化物酶体作为脂肪酸氧化的场所,自噬小体/溶酶体则参与脂质的快速脂解,它们都直接参与脂质代谢。脂滴与内质网、线粒体、过氧化物酶体以及溶酶体都具有互作,这些细胞器互作可以调控细胞内脂质分解代谢和合成代谢,维持脂质代谢稳态以及实现机体能量平衡。本文以脂滴为中心,总结介导脂滴与内质网、线粒体、过氧化物酶体以及自噬小体/溶酶体等细胞器互作的分子以及相应的生物学功能等方面的研究进展。

关键词 细胞器互作, 脂滴, 内质网, 线粒体, 过氧化物酶体, 溶酶体

细胞器是细胞内生化过程发生的场所,它们由膜系统分开,相对独立地完成特定的代谢过程,从而实现了细胞器功能专一化^[1]。与此同时,细胞区域的专一化也带来了一系列问题——由生物膜分开的细胞器阻碍了物质和信号分子的交流,从而大大降低了物质交流和信号转导的速率,细胞内不同细胞器之间如何既区域分工又彼此交流是细胞生物学发展关注的问题。随着显微技术的发展,人们得以观察到细胞器之间并不是彼此独立,而是通过膜泡运输和细胞器互作两种主要方式进行物质和信息的交流^[1]。与膜泡运输不同,

细胞器互作不需要两个细胞器的膜融合,因此容易被人们忽视,直到近10年才成为研究的热点。

不同的细胞器间普遍存在互作^[2],该互作具有以下几个特点:(i) 细胞器互作距离范围为10~80 nm,大多数处于10~30 nm;(ii) 不需要两个细胞器的膜融合;(iii) 细胞器互作区域具有特殊的蛋白质组和脂质组,具有特殊的功能^[1]。细胞器互作大多由互作区域蛋白-蛋白相互作用或者蛋白-脂质相互作用介导,这些蛋白可以是结构蛋白,负责拉近两个细胞器,招募其他蛋白形成互作复合体;也可以是功能蛋白,负责细

引用格式: 刘叶阳, 许梦瑶, 李蓬, 等. 脂滴与其他细胞器互作调控脂稳态的分子机制. 中国科学: 生命科学, 2022, 52: 76–94

Liu Y Y, Xu M Y, Li P, et al. The molecular mechanisms of contacts between lipid droplets and other organelles in lipid homeostasis regulation (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2022, 52: 76–94, doi: 10.1360/SSV-2021-0102

胞器互作区域物质运输和信号转导, 或者作为调节因子调控细胞器互作^[1].

脂滴是由单层磷脂分子包裹的细胞器, 来源于内质网, 在细胞内负责中性脂(如甘油三酯、胆固醇酯等)的储存, 也是细胞脂质代谢的中心^[3]. 与脂滴相关的细胞器互作广泛参与脂质代谢, 同时调控脂滴的新生、生长、融合以及降解. 脂滴-内质网互作帮助将合成的中性脂运输至脂滴内储存, 同时减少内质网中脂毒性; 脂滴-脂滴互作参与脂滴融合, 这类融合由CIDE (cell death-inducing DFF45-like effector)蛋白调控促进脂肪细胞中大脂滴乃至单室脂滴的形成, 提高细胞储脂的能力(可参考综述文献^[4]); 脂滴-线粒体和脂滴-过氧化物酶体互作主要帮助线粒体和过氧化物酶体快速接受脂滴释放的游离脂肪酸, 并且进行氧化代谢提供能量^[5]. 此外, 脂滴也可以通过溶酶体介导的自噬进行降解^[6]. 因此, 脂滴和这些细胞器互作可以增加脂质分子在细胞器间的流通速率, 提高脂质代谢的效率. 与脂滴相关的细胞器互作缺陷一定程度上会破坏脂质代谢稳态, 可能导致各种疾病(代谢性疾病、神经系统性疾病等)的发生. 本文总结了参与脂滴和内质网、线粒体、过氧化物酶体、溶酶体互作的蛋白以及这些细胞器互作的生理学功能.

1 脂滴-内质网互作

脂滴-内质网互作主要参与脂滴新生与脂滴生长, 该互作能帮助脂滴相关蛋白、中性脂以及磷脂从内质网向脂滴高效运输, 帮助脂滴新生和生长^[7]; 同时, 脂滴新生和生长也可以缓解游离脂肪酸对细胞的脂毒性, 可以避免内质网应激反应的发生以及脂毒性带来的细胞自噬^[8,9]. 此外, 脂滴的动态变化可以帮助机体维持脂代谢稳态. 目前, 脂滴-内质网互作蛋白缺陷导致的疾病主要有两种, 其一是脂肪营养不良(如Seipin突变病人等), 主要由脂肪组织储存中性脂功能的不足引起, 相应产生脂质的异位储存^[7]; 其二是神经系统类疾病(如Rab18, VPS13A/C, Snx14等突变病人), 具体发病机制并不是十分明确^[10,11].

与其他细胞器相比, 脂滴-内质网互作的现象最为普遍, 其机理也研究得相对透彻. 脂滴来源于内质网, 目前被普遍接受的脂滴新生模型如下: (i) 中性脂在内质网中合成, 并且在磷脂双分子层之间积累, 达到一

定量的时候在内质网外膜的某个区域形成类似于棱镜的结构; (ii) 随着中性脂的不断积累, 膜内部的压力增大, 脂滴由单层磷脂分子包裹, 从内质网中出芽, 脂滴-内质网间形成管状通道, 实现中性脂的流通; (iii) 出芽后的脂滴会与内质网继续交流脂质, 脂滴本身也可以合成中性脂, 使得脂滴进一步长大, 完成脂滴的成熟^[3]. 脂滴出芽需要符合一些标准. 首先, 脂滴中的中性脂积累要到一定的程度. 其次, 脂滴出芽伴随膜的动态变化, 需要磷脂在内质网双层膜实现不对称分布, 帮助脂滴的出芽, 还需要一些特殊磷脂的参与. 具有内在负曲率的一些磷脂(如二酰基甘油(diacylglycerol, DAG)和磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamines, PE))会阻止脂滴的出芽, 形成嵌入式脂滴; 具有内在正曲率的一些磷脂(如lysolipids)可以帮助脂滴的出芽^[12]. 最后, 脂滴新生需要内质网提供磷脂, 如果内质网的磷脂不能及时补充, 脂滴新生过程也会被抑制. 脂滴从内质网出芽后仍与内质网有着密切的联系, 新生脂滴与内质网之间有时仍存在互作蛋白以及脂质流通通道, 帮助新生脂滴生长成熟.

目前陆续报道了一些介导脂滴-内质网互作的蛋白质机器(图1), 它们根据功能主要可以分成两类. 第一类脂滴-内质网互作蛋白主要参与脂滴的新生(LD biogenesis), 它们在内质网上呈点状动态分布, 在脂滴诱导条件下决定了脂滴新生的位点, 并且在脂滴出芽区域帮助形成中性脂通道(如Seipin), 或者通过改变脂滴和内质网膜的磷脂分布(如FIT2), 从而帮助脂滴出芽. 第二类脂滴-内质网互作蛋白主要参与脂滴的生长和成熟, 它们在脂滴新生后被招募上脂滴, 并且通过与内质网结合从而稳定脂滴-内质网互作. 有些互作蛋白还会招募中性脂合成代谢中的一些酶(如GPAT4, DGAT2, ACSL3等), 实现中性脂高效合成以及在脂滴-内质网间的运输, 从而促进脂滴生长. 关于脂滴新生过程的综述和脂滴-脂滴互作促进脂滴融合长大的研究进展, 可以参考近期综述^[4,13], 下文将详细总结介导脂滴-内质网互作的蛋白质机器及其功能.

1.1 Seipin介导新生脂滴在内质网上的形成

Seipin突变能导致人类最严重的脂肪缺陷症——II型Berardinelli-Seip先天性脂肪缺陷(Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy 2, BSCL2)^[7]. 与人类相似, 脂肪特异性敲除Seipin的小鼠表现为脂肪营养不良, 但

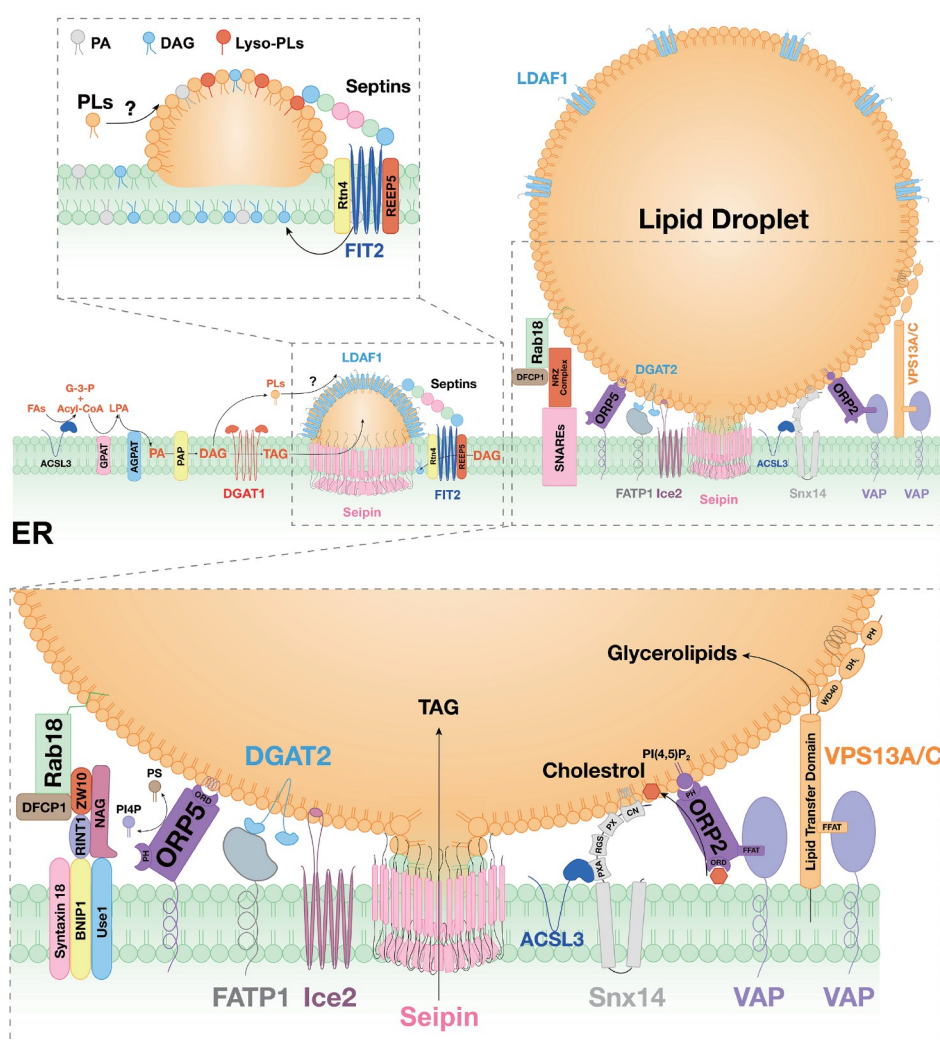


图 1 脂滴-内质网互作。脂质的合成发生于内质网。其中，甘油三酯(triacylglyceride, TAG)由甘油和游离脂肪酸经过ACSL3, GPAT, AGPAT, PAP(lipin), DGAT1/2等一系列酶的催化合成并且通过Seipin-LDAF1组成的通道由内质网流到脂滴内。磷脂分子来源于DAG, 通过一些未知的磷脂分子结合蛋白转运至脂滴表面。不同磷脂分子具有不同的曲率, 磷脂分子在脂滴-内质网互作区域的不对称分布保证了脂滴出芽过程的正常进行, FIT2通过改变DAG在脂滴-内质网互作区域的分布促进脂滴出芽。脂滴出芽后仍依靠一些互作蛋白(Rab18, ORP5, FATP1-DGAT2, Ice2, Snx14-ACSL3, ORP2-VAP, VPS13A/C-VAP等)与内质网有紧密的联系, 有助于两个细胞器之间的物质交流和信号转导

Figure 1 LD-ER contact. Lipids, including phospholipids and neutral lipids, are synthesized at the ER. Triacylglycerides (TAGs) are synthesized from glycerol and free fatty acids through a series of enzymes such as ACSL3, GPAT, AGPAT, PAP, and DGAT1/2. After that, TAGs flow from ER to LDs through the channel composed of Seipin-LDAF1. Phospholipids, derived from DAGs by some enzymes in ER, are transported to the surface of LDs through some unknown lipid binding proteins. Different phospholipid species have different curvatures and their asymmetric distribution in contact membrane ensures LD budding. During this process, FIT2 redistributes DAGs in LD-ER contact sites and promotes LD budding. After budding, LDs still form intimate relationship with ER by some tethering proteins (Rab18, ORP5, FATP1-DGAT2, Ice2, Snx14-ACSL3, ORP2-VAP, VPS13A/C-VAP, etc.). This facilitates material exchange and signal transduction between two organelles. FA: fatty acid; G-3-P: glycerol-3-phosphate; LPA: lysobisphosphatidic acid; PA: phosphatidic acid; PL: phospholipid; Lyso-PL: lysophospholipid; PI4P: phosphatidylinositol 4-phosphate; PI(4,5)P2: phosphatidylinositol-bis-4,5-phosphate; PS: phosphatidylserine. ACSL3: Acyl-CoA synthetase 3; GPAT: glycerol-3-phosphate acyltransferase; AGPAT: 1-acyl-sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase; PAP: phosphatidate phosphatase; DGAT1: diacylglycerol O-acyltransferase 1; LDAF1: lipid droplet assembly protein 1; FIT2: fat-storage-inducing transmembrane protein 2; Rtn4: reticulon-4; REEP5: receptor expression-enhancing protein 5; Rab18: ras-related protein 18; DFCP1: zinc finger FYVE domain-containing protein 1; NRZ: NAG-RINT1-ZW10; ORP5: oxysterol-binding protein-related protein 5; FATP1: long-chain fatty acid transport protein 1; DGAT2: diacylglycerol O-acyltransferase 2; Ice2: little elongation complex subunit 2; Snx14: sorting nexin-14; ORP2: oxysterol-binding protein-related protein 2; VPS13A/C: vacuolar protein sorting-associated protein 13A/C. ORD: OSBP related domain; PH: pleckstrin Homology; PXA: phox homology associated; RGS: regulator of G-protein signaling; PX: phox homology; CN: C-terminal nexin; FFAT: two phenylalanines in an acidic tract; DHL: Dbl homology-like

是Seipin在肝细胞中并不参与调控脂质代谢,说明Seipin的功能具有组织特异性的特点^[14]. 此前的研究利用酵母系统筛选影响脂滴形态的蛋白,发现在Seipin酵母同源蛋白Fld突变体中,脂滴趋向于集群(cluster),并且存在一些超大脂滴^[15,16]. 进一步研究发现,Seipin位于内质网膜上,并且在脂滴新生的过程中可以移动并富集在脂滴新生区域,参与脂滴-内质网互作,帮助蛋白质和脂质在内质网和脂滴之间运输,促进脂滴的新生和生长^[15-24]. 对Seipin结构的冷冻电镜解析显示,11个Seipin单体形成的同源寡聚体以环状结构包绕着脂滴出芽区域的内质网膜^[17-20]. 每个Seipin单体具有两个内质网跨膜域、一个疏水螺旋结构域(hydrophobic helix, HH)和一个 β -sandwich结构^[17-19]. 其中,HH结构域在物种间较为保守,研究者推测该结构域可能与其他蛋白质相互作用形成复合体结构. 研究者进一步对HH结构域免疫共沉淀的蛋白质谱结果分析得出,HH结构域可以结合一种新蛋白TMEM159,并将其命名为LDAF1(lipid droplet assembly protein 1). HH结构域可以招募一分子LDAF1组成Seipin-LDAF1复合体,标记脂滴新生的位点,促进脂滴新生^[19,20]; β -sandwich结构域可以结合阴离子磷脂(如磷脂酸(phosphatidic acid, PA)),通过改变内质网膜局部的磷脂分布稳定脂滴-内质网互作^[18]. 目前关于Seipin参与脂滴-内质网互作从而影响脂滴新生的模型有两个,一是Seipin同源寡聚体在脂滴-内质网间形成脂质流通通道,中性脂按照一定的物理规律进入脂滴,促进脂滴的新生和生长^[20];二是Seipin参与甘油三酯合成代谢通路,与磷脂酸PA以及相关合成代谢酶(GPAT, AGPAT2, LIPIN)结合^[22,24],一方面通过改变内质网膜结构形成脂滴出芽区域^[18],另一方面通过激活PPAR γ 信号通路以及上调甘油三酯合成代谢通路促进脂滴的新生^[24]. 这些研究暗示Seipin的功能多样,其作用机制仍需要进一步探索,仍存在一些未知的机制和功能,对这两种模型需要进一步的完善.

1.2 FIT2通过PA代谢参与新生脂滴在内质网上的形成

FIT(fat-storage-inducing transmembrane)蛋白家族具有两个成员,即FIT1和FIT2. 其中, FIT2在脂肪组织中高表达,暗示其在脂代谢中存在潜在功能^[25]. 在小鼠脂肪组织中特异性敲除FIT2会导致脂肪营养不良

(lipodystrophy), 该现象在老龄小鼠、高脂喂养以及ob/ob小鼠中更显著^[26].

研究发现, FIT2在脂滴新生位点富集, 并且可以去除该处过量的DAG, 使脂滴出芽过程可以正常进行^[12]. FIT2参与磷脂代谢, 通过对PA代谢的调控使PA在内质网双层膜实现不对称分布, 促进脂滴新生^[27]. 此外, FIT2本身具有酰基辅酶A二磷酸酶(acyl-coenzyme A diphosphatase)活性, 可以将脂酰辅酶A(fatty acyl-coenzyme A)转化成酰基-4-磷酸泛酰巯基乙胺(acyl 4'-phosphopantetheine), 从而稳定内质网结构, 防止内质网应激^[28]. 在敲除FIT2的细胞中, 脂滴以嵌入式滞留在内质网中^[29]. 最近的研究发现, FIT2可以与管状内质网形成相关蛋白Rtn4(reticulon-4)和REEP5(receptor expression-enhancing protein 5)结合, 敲低Rtn4和REEP5会减少脂滴的数量和大小^[30]. 此外, FIT2可以与细胞骨架蛋白Septins结合. Septins由septin 2/6/7组成纤维状结构, 每个septin都具有二聚体, septin 7介导和FIT2的互作, 而其他septins负责结合磷脂. 因此Septins作为FIT2和新生脂滴磷脂之间的“扶手”, 与FIT2共同介导脂滴新生^[30]. 总之, 这些研究表明, FIT2通过改变在内质网形成的新生脂滴的脂质成分, 帮助脂滴出芽, 但是其细节还需要更加深入的研究.

1.3 Rab18及其效应分子复合体介导脂滴-内质网互作促进脂滴生长

Rab家族作为一种小G蛋白广泛分布在各细胞器膜上, 其通过C末端的半胱氨酸残基的异戊二烯化(prenylation)修饰插入膜中行使功能, 参与不同细胞器膜之间的各种动态变化^[31]. 脂滴表面也分布着一些Rab家族蛋白, 目前有明确脂滴定位报道的Rab成员包括Rab5, Rab8a和Rab18, 其中Rab5参与脂滴-早期内囊体(early endosomes)互作^[32], Rab8a参与Cidec/Fsp27介导的脂滴-脂滴融合生长过程^[33], Rab18则参与脂滴-内质网互作促进脂滴生长^[34]. Rab18介导脂滴-内质网互作促进脂滴生长的过程受到一系列分子的调控. 首先, Rab18的调节蛋白GEF/GAP分别通过调控Rab18结合GTP或GDP形式影响其功能. Rab18是一个内质网定位蛋白, 在油酸诱导脂滴生长的条件下观察到Rab18移动至脂滴表面^[34-36]. 研究发现, Rab18必须以Rab18-GTP形式定位于脂滴, 该过程受到其GEF蛋白Rab3-GAP1/2复合体蛋白的调控, 这三个蛋白可以富集于新

生脂滴上^[34]。Rab3GAP1/2任何一个成员的缺失, 都会导致Rab18脂滴定位的丢失, 但不影响其在内质网上的定位。TBC1D20是Rab18的GAP, 将Rab18-GTP转变为Rab18-GDP, 细胞中过表达TBC1D20抑制Rab18定位于脂滴, 但不影响其在内质网上的定位。另有文献报道Rab18和Rab3GAP复合体缺失影响细胞内质网结构^[37]; Rab18的另一个GEF——TRAPP1和COPI一起招募Rab18到脂滴表面, 调控脂质代谢^[38]。其次, 定位于脂滴的Rab18与内质网相关蛋白ZW10-RINT1-NAG (NRZ)复合体相互作用, 而NRZ又与内质网定位的SNARE(Use1, Syntaxin18, BNIP1)复合体相互作用, 从而介导了脂滴-内质网互作^[34]。通过对新生脂滴和成熟脂滴的观察, 虽然Rab18定位于新生脂滴上, 缺失Rab18不影响新生脂滴的形成, 但它阻碍新生脂滴生长成为成熟脂滴的过程。实验证明Rab18介导的脂滴生长是依赖DGAT1合成脂质的, 表明Rab18-NRZ-SNARE蛋白复合体将脂滴-内质网栓系在一起, 但是目前还不清楚脂质是如何从内质网转移至脂滴的。

此外, 内质网相关蛋白DFCP1也被认为是Rab18的效应分子, 能通过Rab18定位到脂滴表面, 同时与内质网上的Seipin互作, 促进脂滴生长, 但是DFCP1缺失对脂滴形态和大小的改变不是非常显著^[39]。Rab18和Seipin的缺失都会导致细胞内超大脂滴的形成, 不同的是, Seipin缺失极大地阻碍了新生脂滴的形成, Rab18的缺失不影响新生脂滴的形成, 而是阻碍了新生脂滴生长成为成熟脂滴的过程。也有研究报道Seipin敲除的细胞中一些新生脂滴生长同样受到Rab18的调控, 说明Rab18也有一些独立于Seipin的功能^[20]。由于Rab18和Seipin分别都有比较复杂的功能, 两者在脂滴成熟过程中是否具有协同作用还需要更多的研究。此外, Rab18在不同细胞系中的功能也有所不同。例如, Rab18介导脂滴生长的功能在脂肪细胞以及小鼠睾丸间质细胞中存在, 而在人乳腺癌细胞系SUM159中虽然也存在内质网和脂滴定位, 但其缺失不影响脂滴的生长过程^[40], 这些可能与Rab蛋白的冗余或者Rab18的效应分子有关。

1.4 Mdm1/Snx14招募脂酰辅酶A合成酶至脂滴-内质网互作区域促进脂滴生长

酵母蛋白Mdm1及其人同源蛋白Snx14均被报道参与脂滴-内质网互作。最初的研究在酵母筛选系统内

发现Mdm1可以介导内体小泡的运输以及内质网-液泡互作^[41], 之后的研究发现, Mdm1定位在酵母的NVJ (nuclear ER-vacuole junction)区域, 介导内质网-脂滴-液泡互作^[42,43]。Mdm1具有两个N端跨膜区域, PXA区域, G蛋白调节区域, PX区域以及C端Nexin区域^[43]。其中, N端跨膜区域将Mdm1锚定在内质网或脂滴上, PXA区域结合游离脂肪酸以及脂酰辅酶A合成酶Faa1, PX区域可以结合液泡膜上的PI3P实现内质网/脂滴和液泡之间的物理联系^[43]。Mdm1招募脂酰辅酶A合成酶Faa1至脂滴新生区域, 加速该区域的TAG合成, 从而介导脂滴新生。此外, 在营养应激条件下, 脂质分解会产生大量游离脂肪酸, 破坏内质网结构, 对细胞产生脂毒性; Mdm1在此过程中可以代偿性上调脂滴新生过程, 中和释放到细胞质中的游离脂肪酸, 并且将其运输到液泡进行降解, 防止产生脂毒性^[43]。

人类与Mdm1同源的蛋白Snx14也被发现具有介导脂滴-内质网互作的功能。人Snx14突变与一种小脑性共济失调疾病相关——脊髓小脑性共济失调(SCAR20), 这种疾病临床表现为小脑肥大、智力残疾、语言障碍, 其病因与脂代谢密切相关^[11]。与酵母Mdm1类似, Snx14也可以结合人脂酰辅酶A合成酶ASCL3, 但与Mdm1不同的是, Snx14并不参与脂滴新生, 而是在脂滴新生之后再被ASCL3富集到脂滴新生位点, 稳定脂滴-内质网互作, 并且吸引游离脂肪酸分子在互作区域合成中性脂进入脂滴, 促进脂滴生长^[44]。

1.5 VAP及其互作蛋白介导脂滴-内质网互作并转运脂质

VAP(vesicle-associated membrane protein(VAMP) associated protein)锚定在内质网上, 能识别其他蛋白上的FFAT motif, 因此VAP能招募一系列相关的蛋白, 参与细胞器互作。其中目前已知能与VAP结合的脂滴-内质网互作蛋白有VPS13A/C和ORP2。

VPS13家族蛋白包含VPS13A/B/C/D四个成员, 其突变会导致神经和发育障碍。例如, VPS13A突变与舞蹈病相关(chorea acanthocytosis), VPS13C突变与帕金森综合征相关^[10]。VPS13家族蛋白具有类似的结构, 其N端区域(VPS13 α)具有疏水结构, 可以结合脂质从而帮助脂质在细胞器之间运输; 其C端区域有膜定位序列, 不同的VPS13蛋白成员有不同的细胞器定位^[10]。研究发现, VPS13A和VPS13C的N端PH结构域(pleck-

strin homology domain)具有两亲螺旋,可以锚定在脂滴表面,C端的FFAT motif可以和内质网上的VAP结合,从而介导细胞器互作^[10].其中,VPS13A同时参与内质网-线粒体以及脂滴-内质网互作,VPS13C同时参与内质网-溶酶体以及脂滴-内质网互作,并且这两个蛋白都可以帮助脂质在细胞器之间运输^[10,45].但是这两个蛋白在脂代谢中的具体功能不详.

1.6 ORP家族成员蛋白介导脂滴-内质网互作并转运脂质

ORPs家族蛋白主要参与固醇等脂质在细胞器间的运输,其C端比较保守,具有ORD结构域,可以结合磷酸肌醇(PIP)或者固醇类脂质,负责脂质的运输^[46-48];其N端比较多变,有些成员具有PH结构域,可以结合磷酸肌醇并锚定在细胞器膜上,有些成员中间具有FFAT motif,可以和VAP结合.目前ORP蛋白参与固醇类脂质运输的模型为:膜上的ORP蛋白结合固醇后会发生构象变化,与磷脂的结合能力下降从而脱离细胞膜;当ORP蛋白结合到另一个细胞膜上时,构象再次变化,释放固醇,并且再次结合在细胞膜上,从而完成固醇在细胞器间的运输^[46,47].

研究发现,ORP家族蛋白成员ORP2定位在脂滴上,并且通过与内质网上的VAP结合,参与脂滴-内质网互作,在调控胆固醇转运的同时,也可以广泛地调节甘油三酯和糖的代谢^[49-60].

此外,最近的研究发现该家族另一个成员ORP5也参与脂滴-内质网互作.ORP5的C端跨膜区域定位在内质网上,ORD结构域具有两亲螺旋可以结合脂滴,N端的PH结构域可以介导内质网-细胞质膜互作.ORP5可以帮助磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)从内质网向脂滴运输^[48].

此外,还有很多蛋白参与脂滴-内质网互作(表1),如FATP1-DGAT2, Ice2, VMP1和Pah1^[7],但目前对其机制和功能研究还不是特别完善,有待于更加深入的研究.目前发现的脂滴-内质网互作蛋白数量相对较多,虽然这些互作蛋白都能参与脂滴-内质网互作的调控,但具体的功能也有略微的差异,并且这些互作蛋白自身可能还有其他生物学功能.因此,这些蛋白如何协同合作调控脂滴-内质网互作,功能之间是否存在冗余,是否在不同环境下发挥不同的功能,是否存在主要和次要的互作蛋白,都需要更加深入的研究.此外,

目前人们对脂滴新生和生长模型也有一定的争议,需要开发更加精细的影像学技术去观察脂滴新生、生长过程,并且观察内质网在该过程中的作用^[7].

2 脂滴-线粒体互作

线粒体是细胞的能量工厂,其在脂质代谢中发挥的作用不言而喻.一方面,线粒体通过三羧酸循环和氧化磷酸化为脂质合成提供原料(如乙酰辅酶A)和能量(如ATP);另一方面,线粒体接收脂滴释放的游离脂肪酸,通过 β 氧化分解脂肪,为细胞提供能量和热量.脂滴-线粒体互作能使这两个细胞器协同作用,高效完成脂质从头合成以及脂质分解过程,提高细胞代谢效率.因此,在饥饿和锻炼条件下,脂滴-线粒体互作程度增加^[2],而脂滴-线粒体互作的研究也多见于分解代谢旺盛的组织,如心脏、骨骼肌、棕色脂肪组织等.根据脂滴-线粒体互作力的大小可以将脂滴-线粒体互作细分为两类:(i)动态互作,能被高速离心力破坏($9000\times g$).加州大学的Shirihai实验室^[67]利用 $9000\times g$ 离心力将小鼠棕色脂肪细胞中与脂滴互作的线粒体分离出来,并将其称为脂滴周线粒体(peridroplet mitochondria, PDM).(ii)稳定互作,不能被高速离心力破坏($9000\times g$)^[68].生物物理所的刘平生实验室^[68,69]发现脂滴与线粒体还存在一种更加稳定的互作,它们的互作非常紧密,即使 $228000\times g$ 超速离心也无法将二者分离开,并将这种线粒体称为脂滴锚定的线粒体(LD-anchored mitochondria, LDAM),这种互作被认为可能是永久性互作.

脂滴-线粒体互作在脂质代谢中的功能目前仍然存在激烈的争论.一方面,在饥饿环境下,脂滴表面存在一些酶(ATGL, HSL, MGL),通过对甘油三酯一步步降解,释放出甘油和游离脂肪酸,该过程称为脂解作用(lipolysis).由于游离脂肪酸在细胞质内富集会致脂毒性,线粒体可以接收部分脂肪酸,并且对其进行 β 氧化为饥饿细胞提供能量.人们猜想脂滴-线粒体互作可以缩短游离脂肪酸在细胞器间移动的距离,从而使脂解过程更加高效,提高代谢速率^[70],这比较符合细胞器功能和能量需求.但另一方面,有研究在棕色脂肪细胞中发现PDM更倾向于利用糖代谢合成ATP和乙酰辅酶A,参与甘油三酯合成;其 β 氧化速率低于胞质中游离的线粒体(cytosolic mitochondria, CM)^[67],提出包

表 1 本文介绍的细胞器互作蛋白总结

Table 1 Summary of organelle contact proteins in this review

互作蛋白	组织/细胞类型	机制和功能	参考文献
Seipin-LDAF1	酵母, 线虫, 果蝇, 人皮肤鳞癌细胞系A431, 人乳腺癌细胞系SUM159等	决定脂滴出生位点, 形成中性脂流通通道, 促进脂滴生成	[15~24]
	脂肪组织	脂肪组织特性敲除导致脂肪营养不良	[14]
	肝脏	肝脏特异性敲除不影响肝脏脂代谢	[14]
FIT2	酵母, 脂肪组织	参与磷脂代谢, 改变脂滴和内质网的磷脂分布, 帮助脂滴出芽, 脂肪组织特异性敲除导致脂肪营养不良	[12,25~29,61]
Rab18, NRZ, SNARE, DFCEP1	脂肪细胞3T3-L1, 睾丸间质细胞TM3	促进甘油三酯合成以及脂滴生长	[34~40,62]
	人乳腺癌细胞系SUM159	不影响脂滴生长	[40]
Snx14(Mdm1)	酵母, 人骨肉瘤细胞系U2OS	结合人脂酰辅酶A合成酶ASCL3, 促进甘油三酯合成以及脂滴生长	[11,41~44]
VPS13A/C-VAP	人胚胎肾细胞系HEK293T	参与多种细胞器互作, 帮助脂质在细胞器间运输	[10,45]
ORP2-VAP	人肝癌细胞系Huh7	帮助固醇类脂质在细胞器间运输	[46,47,49~60]
ORP5	人宫颈癌细胞系HeLa	通过交换PI4P, 将磷脂酰丝氨酸运输至脂滴, 参与脂滴-内质网以及内质网-细胞质膜互作	[48]
FATP1-DGAT2	线虫	促进甘油三酯合成以及脂滴生长	[63]
Ice2	酵母, 非洲绿猴肾成纤维细胞系COS7	协调中性脂储存和磷脂合成	[64]
VMP1	人宫颈癌细胞系HeLa, 非洲绿猴肾成纤维细胞系COS7	参与细胞自噬	[65]
Pah1	酵母	酵母系统, 参与磷脂合成途径	[61,66]
PLIN5	小鼠心肌细胞	介导脂滴-线粒体互作, 过表达抑制基础代谢情况下脂质分解, 积累中性脂, 使线粒体膨大, 破坏线粒体嵴的结构, 影响线粒体的代谢功能, 导致心脏脂肪变性	[73]
	骨骼肌细胞	在脂滴-线粒体互作位点富集, 功能待研究	[75]
	非氧化代谢旺盛的组织(如白色脂肪组织)	不表达, 无功能	[80]
MFN2	棕色脂肪组织	介导脂滴-线粒体互作, 影响线粒体代谢功能, 参与棕色脂肪组织产热	[78]
MIGA2	白色脂肪组织	介导脂滴-线粒体互作, 促进中性脂合成, 脂肪细胞的分化	[80]
VPS13D	人胚胎肾细胞系HEK293	介导脂滴-线粒体互作, 帮助脂肪酸从脂滴转运至线粒体	[82]
M1-Spantin	人宫颈癌细胞系HeLa	和过氧化物酶体蛋白ABCD3结合, 介导脂滴-过氧化物酶体互作, 帮助脂肪酸从脂滴转运至过氧化物酶体	[95]
PEX5	线虫和小鼠脂肪组织	饥饿条件下招募ATGL到脂滴表面进行脂肪分解	[91]

绕脂滴的线粒体主要将脂肪酸供应给脂滴, 减少脂肪酸对线粒体的毒性。这些研究结果, 使得脂滴-线粒体互作更为复杂, 需要更多的研究证据。

相对于脂滴-内质网互作蛋白, 脂滴-线粒体互作蛋白的研究比较有限, 虽有一些分子被报道参与其中(图2), 但是互作复合体解析还非常不明晰。但由于脂滴-线粒体互作对于脂代谢的重要意义, 最近对于脂滴-线粒体互作蛋白的寻找逐渐成为热点, 下文将具体

介绍目前在哺乳细胞中发现的脂滴-线粒体互作蛋白。

2.1 Perilipin 5介导脂滴-线粒体的互作

围脂蛋白(perilipin, Plin)家族拥有五个成员, 目前对其中Plin1的机制和功能了解最清楚^[71]。在基础代谢情况下, Plin1定位于脂滴助于稳定脂滴结构, 从而助于脂肪累积, 但在脂肪分解的刺激下, 其被PKA磷酸化, 并且能和脂解过程关键酶HSL互作, 也与ATGL的辅助

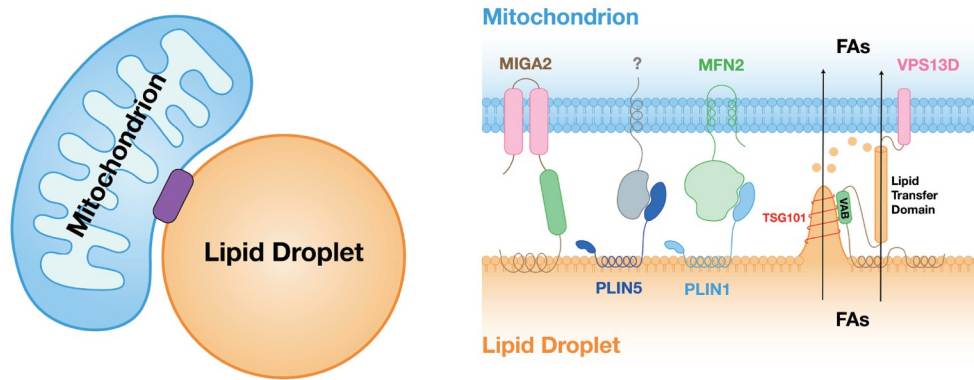


图 2 脂滴-线粒体互作. 脂滴-线粒体互作帮助脂滴释放的脂肪酸高效进入线粒体进行氧化分解. 目前报道的脂滴-线粒体互作蛋白有MIGA2, PLIN5, MFN2-PLIN1, VPS13D-TSG101等, 协助两者间脂肪酸的转运

Figure 2 LD-mitochondrion contact. LD-mitochondrion contact facilitates trafficking of fatty acids between LDs and mitochondria for oxidation. LD-mitochondrion contact proteins found so far include MIGA2, PLIN5, MFN2-PLIN1, and VPS13D-TSG101. MIGA2: mitoguardin 2; PLIN5: perilipin 5; PLIN1: perilipin 1; MFN2: mitofusin 2; VPS13D: vacuolar protein sorting-associated protein 13D; TSG101: tumor susceptibility 101; VAB: VPS13 adaptor-binding

蛋白CGI-58互作, 通过多种方式促进脂质分解^[71]. Plin5是哺乳动物特有的Plin家族蛋白, 主要分布在氧化代谢旺盛的组织中, 如心脏、骨骼肌、棕色脂肪组织和肝脏^[71]. 与Plin1类似, Plin5在基础代谢条件下抑制脂质分解. 尽管Plin5不具备典型的PKA底物的结构域, 其也可以被PKA激活, 磷酸化的Plin5也可以与CGI-58和HSL互作, 并且还能和ATGL互作, 促进脂质分解过程^[72]. Plin5可以受PPAR α 调控, 参与脂肪酸氧化^[73].

近年来人们认为Plin5参与脂滴-线粒体互作, 它是一个脂滴定位蛋白, 其C端20个氨基酸负责招募线粒体到脂滴表面, 将脂滴和线粒体的距离拉近, 提高脂质分解产生的脂肪酸进入线粒体的速率, 防止游离脂肪酸对细胞产生脂毒性^[74]. Plin5在脂滴表面并非均匀地分布, 在人骨骼肌细胞中, Plin5在脂滴与线粒体接触位点富集^[75]. 但Plin5是直接定位于线粒体, 还是依赖线粒体上的蛋白互作形成蛋白复合体, 还有待于进一步的探究. 现阶段Plin5参与脂滴-线粒体互作的研究主要在心肌细胞和骨骼肌细胞中展开. 在小鼠心肌细胞中过表达Plin5会增加脂滴-线粒体互作, 但这会进一步抑制基础代谢情况下脂质分解过程, 从而在心脏内积累更多的中性脂^[73]. 此外, 过表达Plin5还会使线粒体膨大, 破坏线粒体嵴的结构, 影响线粒体的代谢功能^[73]. 因此, 心肌细胞过表达Plin5的小鼠具有轻度心脏功能障碍, 具体表现为左心室重量增加, 以及心脏脂肪变性^[73]. 但是, 目前Plin5参与脂滴-线粒体的证据仅在部分氧化代谢旺盛的组织内发现, 并不是一个普

遍的现象. 此外, Plin5如何调节脂质分解代谢还需要后续研究.

2.2 MFN2-Plin1介导脂滴-线粒体的互作

融合和分裂是线粒体的特征之一, 受细胞所在的营养环境影响. 当细胞营养过剩时, 线粒体趋向于分裂(fission); 当细胞营养缺乏时, 线粒体趋向于融合(fusion)^[76]. 线粒体融合的过程受到线粒体融合蛋白(mitofusin, 包括MFN1和MFN2)调控^[76]. MFN2通过调控线粒体融合影响细胞代谢, 在代谢旺盛的组织(如心脏、骨骼肌、棕色脂肪组织、脑等)中都发挥着重要功能^[76]. Mitofusin N端具有GTPase结构域, 可以结合GTP并且受其调控, MFN2还有一段脯氨酸富集的区域, 参与蛋白-蛋白互作^[76]. 在细胞器互作领域, MFN2是一个明星分子. 早在2008年, 研究者就发现内质网表面的MFN2可以和线粒体表面的MFN2/MFN1形成复合体, 参与内质网-线粒体互作, 影响钙离子在内质网和线粒体间的运输^[77].

此外, 人们发现MFN2与脂滴表面蛋白Plin1互作, 参与脂滴-线粒体互作, 并且该功能受到MFN2的GTPase活性调控, 在脂质分解刺激条件下(如肾上腺素激动剂)被激活^[78]. 在脂肪组织特异性敲除MFN2的小鼠棕色脂肪组织中, 脂滴-线粒体互作减弱, 脂质分解和线粒体代谢功能被抑制, 棕色脂肪组织代谢脂肪以及产热的能力下降, 但促进葡萄糖吸收, 提高高脂食物喂养下的胰岛素敏感性^[78]. 但MFN2介导脂滴-线

粒体互作从而影响脂质分解的具体机制仍需要进一步研究。

2.3 MIGA2介导脂滴-线粒体以及内质网-线粒体互作

在负责脂质合成与储存的白色脂肪组织中, 人们发现另外一个蛋白MIGA2(mitoguardin 2)参与脂滴-线粒体互作。MIGA2定位于线粒体外膜, 受MFN家族蛋白调控, 参与线粒体融合过程^[79]。MIGA2的C端具有两亲片段, 可以结合脂滴表面, 介导脂滴-线粒体互作^[80]。在COS7细胞中过表达MIGA2可以增强脂滴与线粒体的空间互作, 并且线粒体的形态会变得细长, 包裹住脂滴。此外, MIGA2还具有FFAT motif, 可以和内质网上的VAP蛋白结合, 介导内质网-线粒体互作^[80]。MIGA2在白色脂肪组织中参与中性脂的合成以及脂肪细胞的分化^[80], 在小鼠体内脂肪组织特异性敲除MIGA2会导致体重和体脂率降低^[81]。人们推测MIGA2调控脂质代谢主要是通过介导脂滴、线粒体、内质网三者互作, 将线粒体中脂质从头合成过程与内质网中中性脂合成过程耦连起来^[80]。MIGA2是最近发现的细胞器互作蛋白, 其功能还需要深入研究, 而MIGA2所介导的脂滴-线粒体互作是否也参与了脂肪酸氧化的调控, 目前还不清楚。

2.4 VPS13D-TSG101介导线粒体-脂滴互作

上文提到VPS13家族广泛参与细胞器互作(如VPS13A和VPS13C参与脂滴-内质网互作)。近期研究发现, VPS13D和TSG101分别作为线粒体蛋白和脂滴蛋白介导脂滴-线粒体互作, 帮助脂质从脂滴流动至线粒体进行氧化代谢^[82]。VPS13D缺陷会导致小鼠共济失调, 且其脂质分解代谢过程受到影响, 导致脂质沉积症^[83]。研究发现, VPS13D的N端区域定位在线粒体, C端的两个两亲性螺旋结构定位在脂滴, 而饥饿与油酸(oleic acid, OA)处理可以诱导VAP13D在脂滴与线粒体的定位^[82]。TSG101属于内囊体(endosome)蛋白分选转运装置家族蛋白(endosomal sorting complex required for transport, ESCRT), 参与调控膜泡运输过程。VPS13D中VAB结构域可以和TSG101互作, 介导脂滴-线粒体互作, 影响脂滴形态^[82]。与VPS13其他家族成员一样, VPS13D也具有脂质运输结构域, 在体外可以直接结合脂肪酸。在敲低VPS13D的HEK293细胞中, 脂

肪酸的转运受到抑制, 更多的脂质积累在脂滴内, 导致脂滴的数目和大小增加^[82]。因此VAP13D与TSG101的结合不仅介导了脂滴与线粒体的接触, 也可能直接参与了脂肪酸的转运过程。然而, VAP13D如何响应营养状态定位在脂滴与线粒体上并招募TSG101, 还需要进一步研究。还有一个有意思的现象是, 过表达VAP13D的VAB结构域和TSG101不仅促进脂滴与线粒体的接触, 同时脂滴会出现类似于出芽或收缩的形态, 这也许是由ESCRTs蛋白所介导的膜结构拓扑重构导致, 但这种脂滴形态的变化是否参与了脂降解、脂滴-线粒体互作以及脂肪酸转运的调控, 目前也不清楚。

此外, 早期研究也发现SNAP23参与脂滴-线粒体的互作。SNAP23属于SNARE家族中的一员, 在骨骼肌内高表达^[84]。研究发现SNAP23定位于脂滴与线粒体邻近的位置, 并且在NIH 3T3细胞系中敲低SNAP23导致脂滴与线粒体接触减少, β 氧化水平降低^[85]。但是SNAP23是否直接介导脂滴与线粒体的互作, 目前还没有后续研究报道。

脂滴与线粒体的互作有着复杂的调控机制和生理功能, 人们对于这个领域的认识还处在初期阶段, 潜在的互作蛋白还有很多等待挖掘, 其机制和功能也有很多未知的地方。其中最大的一个矛盾是脂滴-线粒体互作到底促进脂质分解、脂质合成, 还是两者都促进。此外, 动态互作和稳定互作有什么机制和功能上的差异, 脂滴-线粒体互作如何影响线粒体和脂滴的动态变化(如脂滴生成、降解, 线粒体分裂、融合等), 需要更加深入的机制研究。而脂滴-线粒体互作如何响应不同的外界刺激(如饥饿、寒冷、运动等), 脂滴-线粒体互作在非氧化旺盛的组织内是否也有生物学意义, 则需要动物模型以及体内实验进行验证。

3 脂滴-过氧化物酶体互作

3.1 过氧化物酶体与脂代谢

在植物和大多数真菌细胞中, 过氧化物酶体是唯一的脂肪酸氧化发生的场所, 其来源于内质网或者线粒体。在动物细胞中, 线粒体与过氧化物酶体共同参与脂肪酸的氧化降解。与发生在线粒体中的 β 氧化有所不同, 过氧化物酶体中缺少电子传递链, β 氧化产生的FADH₂并不能用于合成ATP, 目前认为脂肪酸在过氧化物酶体中并不会降解彻底, 而是转运进线粒体继

续降解, 或者用于合成醚脂。过氧化物酶体与线粒体降解的脂肪酸底物有所不同, 长链与中链脂肪酸在两者中都可以降解, 而超长链脂肪酸更偏向于进入过氧化物酶体, 支链脂肪酸也可以在过氧化物酶体中通过 α 氧化进行降解^[86]。此外, 不同于线粒体中脂肪酸转运需要的CPT1和CPT2, 脂肪酸的转运依赖于过氧化物酶体膜上的三个ABCD蛋白(ATP binding cassette transporter D)^[87]。

由于过氧化物酶体在脂代谢中的重要功能, 脂滴与过氧化物酶体在空间位置上和功能上也有非常紧密的联系。例如, 在脂解和脂肪酸氧化非常活跃的脂肪细胞中, 脂滴、线粒体和过氧化物酶体的功能上的协同效应非常显著, 这极大地提高了脂质的分解代谢效率^[88]。

3.2 脂滴-过氧化物酶体互作蛋白

脂滴-过氧化物酶体互作最初在酵母系统中发现, 过氧化物酶体可以形成突起结构(pexopodia)穿入脂滴内部, 这种现象可能是由过氧化物酶体磷脂双层膜外侧与脂滴融合, 而内侧磷脂膜穿入脂滴造成。过氧化物酶体中 β 氧化相关蛋白在pexopodia中富集, 说明脂滴与过氧化物酶体这种紧密的互作可能介导脂肪酸氧化^[89]。之后在许多系统中, 人们都观察到脂滴与过氧

化酶体的互作, 并且饥饿或者脂肪酸处理可以促进脂滴-过氧化物酶体互作^[2,89-91]。也有研究发现, 脂滴和过氧化物酶体可以在内质网的相同位点出芽, 其过程需要脂滴相关蛋白Seipin与过氧化物酶体相关蛋白Pex30的协同作用^[92,93]。因此, 过氧化物酶体与脂滴存在非常紧密的联系。

在哺乳动物细胞中, 人们只发现了一个结论较为明确的脂滴-过氧化物酶体互作蛋白——M1 Spastin-ABCD1复合体(图3)。Spastin编码一个AAA(ATPase-associated with diverse cellular activities)ATPase, 是遗传性痉挛性截瘫(hereditary spastic paraplegias, HSPs)的致病基因。Spastin蛋白拥有微管结合结构域, 参与调控微管网络重塑^[94]。M1 Spastin是Spastin包含N端疏水发夹模体(Hairpin(Hp) motif)的亚型, 其疏水发夹结构可以帮助其定位在脂滴上。M1 Spastin可以通过其过氧化物酶体互作区域(peroxisome-interacting(PXI) region)与过氧化物酶体上ABCD1(ATP-binding cassette sub-family D member 1)蛋白结合, 促进脂滴与过氧化物酶体的互作以及脂肪酸的转运^[95]。在HeLa细胞中过表达M1 Spastin增加脂滴与过氧化物酶体接触的数目和时间, 并且促进脂肪酸在脂滴和过氧化物酶体间的转运。M1 Spastin介导的脂滴-过氧化物酶体互作依赖于其PXI结构域和ABCD1的结合以及水解ATP的活性,

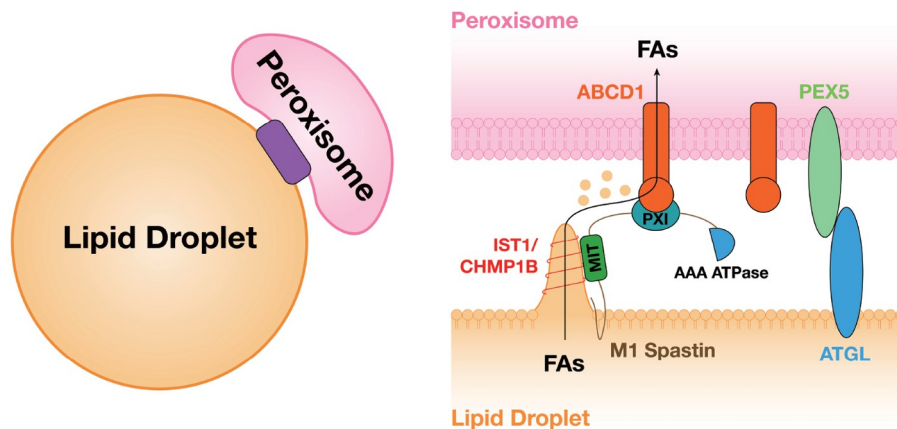


图 3 脂滴-过氧化物酶体。脂滴-过氧化物酶体互作参与超长链和支链脂肪酸的分解代谢。M1 Spastin作为栓系蛋白, 将过氧化物酶体蛋白ABCD1和脂滴蛋白IST1/CHMP1B联系在一起, 其中MIT结构域和ESCRT家族成员IST1/CHMP1B互作, 改变脂滴表面的形态; PXI结构域可以结合过氧化物酶体上的脂肪酸转运体ABCD1, 介导脂滴-过氧化物酶体互作并且转运脂肪酸; C端具有AAA ATPase活性。此外, PEX5在饥饿条件下可以招募ATGL到脂滴-过氧化物酶体互作位点, 促进脂解活性

Figure 3 LD-peroxisome contact. LD-peroxisome contact participates in the metabolism of very long chain and branched chain fatty acids. M1 Spastin is reported to tether LDs and peroxisomes together through LD protein IST1/CHMP1B and peroxisome protein ABCD1. The MIT domain interacts with IST1/CHMP1B, a member of the ESCRT family, and changes the morphology of LD surface; PXI domain binds fatty acids transporter ABCD1 and mediates LD-peroxisome contact and fatty acids trafficking; the C-terminal has AAA ATPase activity. Moreover, PEX5 recruits ATGL to LD-peroxisome contact sites in starve condition and activates lipolysis

但并不受微管的调控。此外, M1 Spastin还可以通过MIT(microtubule interacting and trafficking)结构域招募ESCRT-III成员IST1(increased sodium tolerance 1)和CHMP1B(charged multivesicular body protein 1B)到脂滴上, 共同调控脂肪酸的转运。M1 Spastin所介导的脂滴-过氧化物酶体互作调控了过氧化脂的降解, 并且过氧化物的处理也可以增强它们之间的互作。HSP致病的Spastin点突变抑制脂滴-过氧化物酶体互作, 并导致过氧化脂在脂滴积累。但目前仍不清楚M1 Spastin在体内是否也调控脂滴-过氧化物酶体互作, 是否参与过氧化脂的水解或 β 氧化以及脂滴-过氧化物酶体互作是否与HSP致病相关。

另外, 最近也有研究发现, 饥饿促使过氧化物酶体通过微管运输与脂滴互作, 它们的互作促进ATGL在脂滴上的定位并增加脂降解活性。在饥饿诱导下, 参与过氧化物酶体蛋白转运的PEX5被磷酸化, 可以结合ATGL并帮助其到脂滴上定位, 并增强脂降解活性, 在线虫或小鼠脂肪体中敲除PEX5抑制饥饿诱导的脂降解过程^[91]。PEX5招募ATGL到脂滴与过氧化物酶体接触位点, 可能会帮助水解释放出的脂肪酸更快速地将运到过氧化物酶体中。脂滴-过氧化物酶体互作和PEX5都影响饥饿诱导下ATGL的定位, 但PEX5是否参与调控脂滴-过氧化物酶体互作并不清楚。

目前人们对于脂滴-过氧化物酶体互作的了解非常少, 很多潜在的互作蛋白等待被发现。脂滴-过氧化物酶体与脂滴-线粒体互作的功能类似, 它们如何协同调控脂质分解代谢, 以及它们各自在脂质分解代谢中又有什么特殊的功能, 仍需要深入的研究。此外, 人们发现在脂滴-线粒体和脂滴-过氧化物酶体互作都和微管相关, 包括ESCRT家族蛋白, 微管是否是介导细胞器互作的一个普遍现象, 也需要更多研究证据。脂滴-过氧化物酶体互作分子机制的解析, 不仅能拓宽脂滴与其他细胞器互作的研究范围, 还可以帮助人们全面认识过氧化物酶体在代谢中发挥的功能。

4 脂滴-自噬小体/溶酶体互作

除了位于脂滴表面的脂解酶, 甘油三酯还通过溶酶体酸性脂解酶(lysosomal acid lipases, LALs)以自噬的方式水解, 这一过程称为脂滴自噬(lipophagy)。饥饿或寒冷会诱导脂滴自噬, 降解脂滴中的中性脂以及表

面蛋白^[96,97]。脂滴自噬依赖于传统的巨自噬(macroautophagy)机制, 吞噬泡(phagophore)识别要降解的脂滴, 并延伸包裹住脂滴形成自噬小体(autophagosome), 随后与溶酶体融合, 将脂滴运送到溶酶体内并被酸性脂解酶降解。许多自噬相关的调控蛋白都参与脂滴自噬的调控, 敲除自噬相关基因如Atg5或Atg7可以抑制脂滴自噬导致脂肪积累^[6]。此外, 脂滴还可以与溶酶体直接互作并降解中性脂。LALs介导的脂降解依赖于脂滴与自噬小体或溶酶体的互作。

4.1 脂滴-自噬小体互作

脂滴自噬这种选择性自噬需要脂滴与自噬小体的识别与互作, 通过位于自噬小体的微管相关蛋白轻链3(microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3)蛋白与选择性自噬受体结合, 进而选择性降解脂滴。目前脂滴与自噬小体的识别机制还并不是非常清楚, 但也有许多蛋白被发现参与了脂滴-自噬小体互作的调控(图4A)。脂解酶ATGL与HSL有LC3互作区域(LC3-interacting region, LIR)模体, 并与LC3相互作用。ATGL的LIR模体对脂降解非常重要, 在NIH3T3细胞中突变ATGL的LIR位点抑制ATGL在脂滴的定位与脂降解活性^[98]。但ATGL和HSL与LC3是否直接相互作用, 并且是否介导了脂滴与自噬小体的结合与脂滴自噬的发生, 并不十分清楚。此外, 许多Rab GTPases也被发现参与脂滴-自噬小体互作。例如, 参与调控内吞作用与自噬小体成熟过程的Rab7蛋白同时也调控脂滴自噬。在Hep3B和HuH-7细胞系中, 饥饿会激活Rab7并促进Rab7在脂滴的定位, 敲低Rab7抑制脂滴-自噬小体互作以及随后的与溶酶体的融合^[99]。Rab10也参与了脂滴自噬过程, Rab10定位在自噬小体上, 敲低Rab10也会抑制脂滴-自噬小体互作。Rab10与EHBP1(EH-domain binding protein 1)和EHD2(EH domain containing 2)结合调控自噬小体对脂滴的吞噬^[100]。虽然这些蛋白影响了脂滴-自噬小体互作, 但是在饥饿诱导时, 直接参与脂滴与自噬小体识别与互作的蛋白目前还未被发现。

除了自噬可以利用溶酶体降解脂滴, 分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA)也可以选择性地将脂滴表面蛋白转运到溶酶进行降解。CMA通过分子伴侣Hsc70(heat shock cognate protein of 70 kD)识别要降解的蛋白, 并通过与溶酶体膜蛋白

LAMP-2A(lysosome-associated membrane protein 2A) 互作将蛋白转运进溶酶体降解^[101]。在LAMP-2A敲除小鼠的成纤维细胞和肝细胞中, 脂降解受阻, 脂滴积累。脂滴表面蛋白Plin2和Plin3拥有识别Hsc70的位点, 可以与Hsc70互作并被其选择性降解。而CMA介导的Plin2和Plin3降解可以促进脂解酶ATGL以及自噬相关蛋白, 如LC3, ATG5, Beclin1和NBR1, 在脂滴上的定位^[102]。Hsc70与Plin2的互作促进AMPK介导的Plin2的磷酸化以及随后的降解^[103]。将Plin2中CMA识别位点突变导致Plin2在脂滴表面积累, 同时也抑制脂降解活性以及脂滴-自噬小体互作。Plin2与Plin3在脂滴上的积累如何影响脂滴-自噬小体互作, 以及ATGL介导的脂降解是否参与了这个过程, 目前也还不清楚。

脂滴-自噬小体互作并非仅仅是选择性自噬中的识别过程, 脂滴可能同时还为自噬小体的扩张提供磷脂。自噬小体在包裹底物的过程中需要磷脂膜的扩张, 脂滴中的脂解正可以支持磷脂的合成。在HeLa细胞中脂滴和自噬小体存在暂时性的动态互作, 也暗示它们的互作可能并非仅仅只是介导了脂滴自噬。脂滴上的脂解酶与脂滴中的中性脂也参与调控自噬小体的生成。在HeLa细胞中敲低脂解酶PNPLA5导致LC3标记的自噬小体的数目和面积减少, 敲低参与磷脂酰胆碱PC合成的酶, 包括胆碱磷脂酸转移酶CEPT1和溶血磷脂酰胆碱酰基转移酶LPCAT2也抑制自噬小体的形成, 说明脂滴可能为自噬小体提供磷脂帮助自噬小体的生长^[104]。此外, 长期的饥饿诱导的自噬中, PC合成酶CCTβ3(phosphocholine cytidyltransferase β3, CTP)会定位到脂滴表面并维持自噬的发生。在长期饥饿的MEFs细胞中, 自噬小体主要富集在脂滴附近, 与脂滴有紧密的互作, 这种互作可能为自噬小体的发生提供磷脂合成的底物^[105]。在酵母中, 也发现了脂滴对于自噬的重要性。抑制甘油三酯和胆固醇酯的合成导致酵母中脂滴生成缺陷, 同时也抑制自噬小体的生成, 而敲除中性脂水解酶同样也抑制了饥饿所诱导的自噬^[106]。所以脂滴-自噬小体互作不仅仅参与脂滴本身的自噬, 脂滴还可以为自噬小体的生成提供合成膜组分的原料, 从而影响整个自噬过程的发生。但是这个过程时如何调控和发生的, 目前还不是特别清楚。

4.2 脂滴-溶酶体互作

脂滴除了进入溶酶体被降解外, 还被观察到与溶

酶体存在广泛的动态互作^[2,99,102]。但脂滴-溶酶体互作的调控机制与功能并不清楚。一些调控脂滴-自噬小体互作的蛋白也影响了脂滴-溶酶体互作。例如, Rab7除了在脂滴自噬中调控脂滴-自噬小体互作, 同时也影响脂滴-溶酶体互作, 但是这一过程是如何发生及其与脂滴自噬的关系, 目前还不是特别清楚^[99]。CMA介导Plin2的降解也影响脂滴与溶酶体的互作(图4B)。突变Plin2中识别Hsc70的序列, 导致脂滴-溶酶体互作减少, 或许Hsc70与Plin2的互作促使脂滴-溶酶体互作, 并将Plin2转运至溶酶体降解^[102]。而Hsc70与脂滴蛋白Plin2以及溶酶体蛋白LAMP-2A的互作是否直接介导了脂滴-溶酶体互作, 从而更加快速地把要降解的蛋白转运至溶酶体, 还不明确。CMA介导的Plin2降解同时还促进ATGL介导的脂降解和脂滴自噬, 而此时脂滴-溶酶体互作是否也参与了脂降解过程, 也不清楚。

近来发现脂滴可以通过直接与溶酶体接触, 降解脂滴表面蛋白与转运中性脂。通过活细胞成像和电镜观察, 在AML12小鼠肝细胞中发现脂滴可以直接与溶酶体互作, 且不依赖于自噬机制^[107]。这种互作是暂时的, 大多维持在1 min之内, 少数可达5 min以上。脂滴蛋白和中性脂可以直接转移到溶酶体内进行降解, 而抑制巨自噬与CMA相关基因的表达并不影响两者的互作。虽然饥饿处理并不影响脂滴与溶酶体的接触, 但可以促进中性脂向溶酶体的转移, 说明这种互作可能介导了脂降解过程。通过电镜观察发现互作的脂滴与溶酶体会同时发生变形, 溶酶体包裹突起的脂滴, 出现类似于微自噬(microautophagy)的现象。至于脂滴-溶酶体互作是否是脂滴微自噬, 这一现象是如何被调控的, 细胞器的变形是如何发生的, 又是怎么响应营养状态的, 这些还都不清楚。

5 总结与展望

细胞器互作是一个普遍的现象, 不同的细胞器互作具有不同的功能, 对其互作分子机制的理解, 将促进细胞生物学的发展。但目前细胞器互作无论是从揭示分子机制, 还是认识其生理学功能, 都还处于起步阶段, 期待后续更多深入的研究。

脂滴-内质网互作蛋白发现数目最多, 其机制也相对最清楚, 但由于脂滴来源于内质网, 这两个细胞器之间除了细胞器互作还有各种膜结构的交流, 目前还没

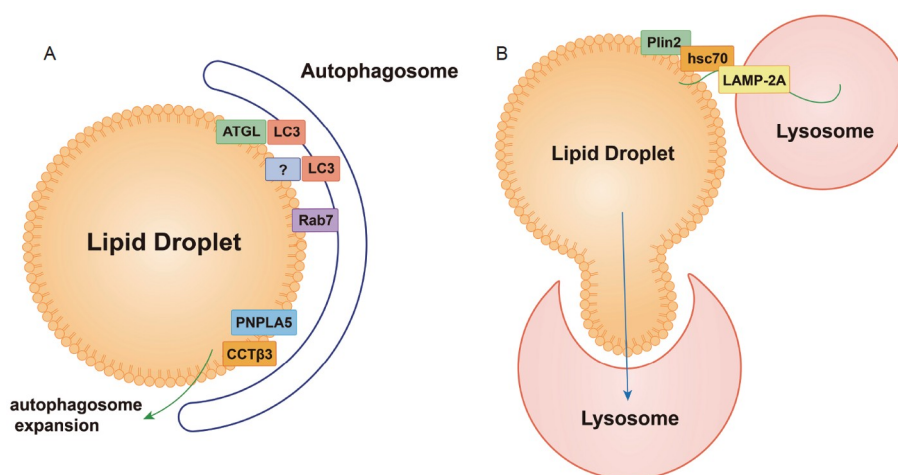


图 4 脂滴-自噬小体/溶酶体互作蛋白。溶酶体酸性脂解酶介导的脂降解依赖于脂滴与自噬小体/溶酶体的互作。A: 在自噬中, LC3介导自噬小体与其识别与互作, 但是目前脂滴上LC3的选择性识别受体仍未知。LC3与脂解酶ATGL与HSL互作并调控脂降解活性。饥饿会诱导Rab7蛋白在脂滴上的定位, 并影响脂滴与自噬小体以及溶酶体的互作。此外, 脂滴与自噬小体的互作还通过为磷脂合成提供原料帮助自噬小体生成。脂滴上的脂解酶PNPLA5与PC合成酶CCTβ3调控饥饿诱导的自噬。B: 脂滴与溶酶体互作。CMA的分子伴侣Hsc70与脂滴蛋白Plin2互作, 并通过溶酶体蛋白LAMP-2A将Plin2转运入溶酶体进行降解。Plin2与Hsc70的互作参与调控脂滴与溶酶体的互作。脂滴还会与溶酶体直接互作, 发生类似于脂滴微自噬的现象, 将脂滴蛋白于中性脂转运入溶酶体进行降解

Figure 4 LD-autophagosome/lysosome contact. Lipolysis mediated by LALs relies on the interaction of LDs and autophagosomes or lysosomes. A: In selective autophagy, recognition of LC3 and receptors mediates the interaction between autophagosomes and cargos. LC3 receptors on LDs have not been found yet. LC3 interacts with ATGL or HSL and regulates their activity. Starvation induces LD localization of Rab7 and regulates the interaction of LDs and autophagosomes/lysosomes. In addition, LD-autophagosome contact facilitates autophagosome biogenesis through supporting phospholipids synthesis. PNPLA5 and CCTβ3 in LD are involved in starvation induced autophagy. B: LD-lysosome contact. CMA chaperone Hsc70 recognizes LD protein Plin2 and delivers it to lysosome by binding to LAMP-2A. Plin2-Hsc70 interaction regulates LD-lysosome contact. The contact between LDs and lysosomes facilitates transfer of proteins and lipids from LDs to lysosomes directly, which resembles macrolipophagy-like phenomenon

有一个统一的模型解释脂滴从内质网生成、生长、出芽分离的完整时空过程以及这些互作蛋白具体在哪些过程中发挥功能, 需要开发更加精细的影像学技术去观察。此外, 这些互作蛋白如何协同作用, 共同调控脂滴-内质网互作也需要进一步的研究^[7]。

相对于脂滴-内质网互作而言, 脂滴-线粒体/过氧化物酶体/溶酶体互作机制并不是特别清楚, 还停留在互作蛋白发现阶段。此外, 线粒体和过氧化物酶体同时具有分解代谢和合成代谢功能。虽然目前认为这两对细胞器互作主要参与脂质分解代谢, 但不排除这两对细胞器在一定条件下参与脂质合成代谢的可能性。

研究细胞器互作的范式主要有三个步骤: (i) 筛选细胞器互作蛋白; (ii) 验证该蛋白确实参与细胞器互作以及其介导细胞器互作的机制; (iii) 探究该互作蛋白所介导细胞器互作的生理学功能。其中, 第二步已经有多种实验方法去验证^[1], 第一步和第三步是目前细胞器互作领域的瓶颈。

(1) 细胞器互作蛋白的筛选。目前, 细胞器互作蛋白的筛选主要有两种方法: (i) 运用蛋白质组学精确分析细胞器互作区域的蛋白质组分, 又称为互作组学^[68]; (ii) 荧光标记细胞器互作区域, 运用定量影像学技术对细胞器互作程度进行定量, 在此基础上通过遗传学筛选手段寻找影响细胞器互作的基因^[108]。这两种方法各有利弊, 互作组学虽然简单可行, 但受到细胞器分离技术的限制, 互作组学数据具有很高的背景噪音, 需要二次筛选; 遗传学筛选虽然能直接靶向细胞器互作, 但设计该系统需要严格的变量控制以及大量的精力。细胞器互作领域发展初期, 酵母系统已经发展成熟, 研究者将该系统和以上两种筛选方法结合, 获得了大量细胞器互作的数据库, 本文提到的多种细胞器互作蛋白大多来源于这些数据库。但是酵母系统中的基因和蛋白不一定在人类中具有相同的功能, 因此在哺乳动物系统中筛选细胞器蛋白是必不可少的。幸运的是, CRISPER/Cas9技术的发展为哺乳动物系统

全基因组遗传学操作提供了可能^[109]。但细胞器互作分子筛选系统仍然是目前的难点, 需要生物学、化学、物理、数学、计算机、人工智能等学科的交叉合作。

(2) 互作功能的研究。细胞器互作的功能, 还需要更为明确的研究。例如, 现在学界对脂滴与线粒体的互作, 是促进脂质分解与氧化, 还是促进脂质合成从而减少脂毒性, 还有很大的争议。有些蛋白质机器被报道介导细胞器的互作, 但是物质是如何运输的, 又是通过哪些分子或者通道进行交流的, 还不清楚。另外, 目前细胞器互作蛋白的研究大多停留在细胞模型, 其生理学功能的验证就更为欠缺。虽然多种基因编辑技术可以大大缩短动物模型构建的时间并且提高成功率, 但是细胞器互作蛋白的功能验证仍然存在一

些难点。首先, 不同细胞器互作蛋白在不同组织、不同细胞甚至不同环境条件下具有不同的功能, 有些细胞器互作蛋白在其他情况下并不介导细胞器互作(表 1), 因此对于某种细胞器互作蛋白的动物模型构建需要考虑到微环境的因素^[7]。其次, 大多数细胞器互作蛋白具有除了介导细胞器互作以外的多种功能, 如要证明细胞器互作是导致某种生理表型的原因, 需要排除其他功能的影响^[7]。

综上所述, 细胞器互作在细胞多种生理活动中发挥着重要的作用, 脂滴和其他细胞器的互作参与调控脂质代谢。对脂滴相关细胞器互作蛋白的寻找以及功能阐释, 也许会为解决代谢性疾病以及神经系统性疾病带来一些新的思路和药物靶点。

参考文献

- Scorrano L, De Matteis M A, Emr S, et al. Coming together to define membrane contact sites. *Nat Commun*, 2019, 10: 1287
- Valm A M, Cohen S, Legant W R, et al. Applying systems-level spectral imaging and analysis to reveal the organelle interactome. *Nature*, 2017, 546: 162–167
- Olzmann J A, Carvalho P. Dynamics and functions of lipid droplets. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20: 137–155
- Chen F J, Yin Y, Chua B T, et al. CIDE family proteins control lipid homeostasis and the development of metabolic diseases. *Traffic*, 2020, 21: 94–105
- Henne W M. The molecular era of lipid droplets. *Contact*, 2020, 3: doi: 10.1177/2515256420912090
- Singh R, Kaushik S, Wang Y, et al. Autophagy regulates lipid metabolism. *Nature*, 2009, 458: 1131–1135
- Hugenroth M, Bohnert M. Come a little bit closer! Lipid droplet-ER contact sites are getting crowded. *Biochim Biophys Acta (BBA) - Mol Cell Res*, 2020, 1867: 118603
- Nguyen T B, Louie S M, Daniele J R, et al. DGAT1-dependent lipid droplet biogenesis protects mitochondrial function during starvation-induced autophagy. *Dev Cell*, 2017, 42: 9–21.e5
- Chitraju C, Mejhert N, Haas J T, et al. Triglyceride synthesis by DGAT1 protects adipocytes from lipid-induced ER stress during lipolysis. *Cell Metab*, 2017, 26: 407–418.e3
- Kumar N, Leonzino M, Hancock-Cerutti W, et al. VPS13A and vps13c are lipid transport proteins differentially localized at ER contact sites. *J Cell Biol*, 2018, 217: 3625–3639
- Bryant D, Liu Y, Datta S, et al. Snx14 mutations affect endoplasmic reticulum-associated neutral lipid metabolism in autosomal recessive spinocerebellar ataxia 20. *Hum Mol Genet*, 2018, 27: 1927–1940
- Choudhary V, Golani G, Joshi A S, et al. Architecture of lipid droplets in endoplasmic reticulum is determined by phospholipid intrinsic curvature. *Curr Biol*, 2018, 28: 915–926.e9
- Gao M, Huang X, Song B L, et al. The biogenesis of lipid droplets: lipids take center stage. *Prog Lipid Res*, 2019, 75: 100989
- McIlroy G D, Mitchell S E, Han W, et al. Ablation of *Bsc12/Seipin* in hepatocytes does not cause metabolic dysfunction in congenital generalised lipodystrophy. *Dis Model Mech*, 2020, 13: dmm042655
- Fei W, Shui G, Gaeta B, et al. Fld1p, a functional homologue of human seipin, regulates the size of lipid droplets in yeast. *J Cell Biol*, 2008, 180: 473–482
- Szymanski K M, Binns D, Bartz R, et al. The lipodystrophy protein seipin is found at endoplasmic reticulum lipid droplet junctions and is important for droplet morphology. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 20890–20895
- Sui X, Arlt H, Brock K P, et al. Cryo-electron microscopy structure of the lipid droplet-formation protein seipin. *J Cell Biol*, 2018, 217: 4080–

4091

- 18 Yan R, Qian H, Lukmantara I, et al. Human SEIPIN binds anionic phospholipids. *Dev Cell*, 2018, 47: 248–256.e4
- 19 Chung J, Wu X, Lambert T J, et al. LDAF1 and seipin form a lipid droplet assembly complex. *Dev Cell*, 2019, 51: 551–563.e7
- 20 Salo V T, Li S, Vihinen H, et al. Seipin facilitates triglyceride flow to lipid droplet and counteracts droplet ripening via endoplasmic reticulum contact. *Dev Cell*, 2019, 50: 478–493.e9
- 21 Wang H, Becuwe M, Housden B E, et al. Seipin is required for converting nascent to mature lipid droplets. *eLife*, 2016, 5: e16582
- 22 Talukder M M U, Sim M F M, O’Rahilly S, et al. Seipin oligomers can interact directly with AGPAT2 and lipin 1, physically scaffolding critical regulators of adipogenesis. *Mol Metab*, 2015, 4: 199–209
- 23 Salo V T, Belevich I, Li S, et al. Seipin regulates ER-lipid droplet contacts and cargo delivery. *EMBO J*, 2016, 35: 2699–2716
- 24 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. *Cell Rep*, 2016, 17: 1546–1559
- 25 Gross D A, Zhan C, Silver D L. Direct binding of triglyceride to fat storage-inducing transmembrane proteins 1 and 2 is important for lipid droplet formation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 19581–19586
- 26 Hayes M J, Choudhary V, Ojha N, et al. Fat storage-inducing transmembrane (FIT or FITM) proteins are related to lipid phosphatase/phosphotransferase enzymes. *Microb Cell*, 2017, 5: 88–103
- 27 Chorlay A, Monticelli L, Verissimo Ferreira J, et al. Membrane asymmetry imposes directionality on lipid droplet emergence from the ER. *Dev Cell*, 2019, 50: 25–42.e7
- 28 Becuwe M, Bond L M, Pinto A F M, et al. FIT2 is an acyl-coenzyme A diphosphatase crucial for endoplasmic reticulum homeostasis. *J Cell Biol*, 2020, 219: e202006111
- 29 Choudhary V, Ojha N, Golden A, et al. A conserved family of proteins facilitates nascent lipid droplet budding from the ER. *J Cell Biol*, 2015, 211: 261–271
- 30 Chen F, Yan B, Ren J, et al. FIT2 organizes lipid droplet biogenesis with ER tubule-forming proteins and septins. *J Cell Biol*, 2021, 220: e201907183
- 31 Stenmark H. Rab gtpases as coordinators of vesicle traffic. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10: 513–525
- 32 Liu P, Bartz R, Zehmer J K, et al. Rab-regulated interaction of early endosomes with lipid droplets. *Biochim Biophys Acta (BBA) - Mol Cell Res*, 2007, 1773: 784–793
- 33 Wu L, Xu D, Zhou L, et al. Rab8a-AS160-MSS4 regulatory circuit controls lipid droplet fusion and growth. *Dev Cell*, 2014, 30: 378–393
- 34 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 Cell Biol*, 2018, 217: 975–995
- 35 Martin S, Driessen K, Nixon S J, et al. Regulated localization of Rab18 to lipid droplets. *J Biol Chem*, 2005, 280: 42325–42335
- 36 Ozeki S, Cheng J, Tauchi-Sato K, et al. Rab18 localizes to lipid droplets and induces their close apposition to the endoplasmic reticulum-derived membrane. *J Cell Sci*, 2005, 118: 2601–2611
- 37 Gerondopoulos A, Bastos R N, Yoshimura S I, et al. Rab18 and a Rab18 GEF complex are required for normal ER structure. *J Cell Biol*, 2014, 205: 707–720
- 38 Li C, Luo X, Zhao S, et al. COPI-TRAPP2 activates Rab18 and regulates its lipid droplet association. *EMBO J*, 2017, 36: 441–457
- 39 Li D, Zhao Y G, Li D, et al. The ER-localized protein DFCP1 modulates ER-lipid droplet contact formation. *Cell Rep*, 2019, 27: 343–358.e5
- 40 Jayson C B K, Arlt H, Fischer A W, et al. Rab18 is not necessary for lipid droplet biogenesis or turnover in human mammary carcinoma cells. *MBoC*, 2018, 29: 2045–2054
- 41 Henne W M, Zhu L, Balogi Z, et al. Mdm1/Snx13 is a novel ER-endolysosomal interorganelle tethering protein. *J Cell Biol*, 2015, 210: 541–551
- 42 Hariri H, Rogers S, Ugrankar R, et al. Lipid droplet biogenesis is spatially coordinated at ER-vacuole contacts under nutritional stress. *EMBO Rep*, 2018, 19: 57–72
- 43 Hariri H, Speer N, Bowerman J, et al. Mdm1 maintains endoplasmic reticulum homeostasis by spatially regulating lipid droplet biogenesis. *J Cell Biol*, 2019, 218: 1319–1334
- 44 Datta S, Liu Y, Hariri H, et al. Cerebellar ataxia disease-associated Snx14 promotes lipid droplet growth at ER-droplet contacts. *J Cell Biol*, 2019, 218: 1335–1351
- 45 Yeshaw W M, van der Zwaag M, Pinto F, et al. Human VPS13A is associated with multiple organelles and influences mitochondrial

- morphology and lipid droplet motility. *eLife*, 2019, 8: e43561
- 46 Im Y J, Raychaudhuri S, Prinz W A, et al. Structural mechanism for sterol sensing and transport by OSBP-related proteins. *Nature*, 2005, 437: 154–158
 - 47 Tong J, Yang H, Yang H, et al. Structure of Osh3 reveals a conserved mode of phosphoinositide binding in oxysterol-binding proteins. *Structure*, 2013, 21: 1203–1213
 - 48 Du X, Zhou L, Aw Y C, et al. ORP5 localizes to ER-lipid droplet contacts and regulates the level of PI(4)P on lipid droplets. *J Cell Biol*, 2020, 219: jcb.201905162
 - 49 Hynynen R, Laitinen S, Käkälä R, et al. Overexpression of OSBP-related protein 2 (ORP2) induces changes in cellular cholesterol metabolism and enhances endocytosis. *Biochem J*, 2005, 390: 273–283
 - 50 Hynynen R, Suchanek M, Spandl J, et al. OSBP-related protein 2 is a sterol receptor on lipid droplets that regulates the metabolism of neutral lipids. *J Lipid Res*, 2009, 50: 1305–1315
 - 51 Kentala H, Koponen A, Vihinen H, et al. OSBP-related protein-2 (ORP2): a novel akt effector that controls cellular energy metabolism. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75: 4041–4057
 - 52 Kentala H, Pfisterer S G, Olkkonen V M, et al. Sterol liganding of OSBP-related proteins (ORPs) regulates the subcellular distribution of ORP-VAPA complexes and their impacts on organelle structure. *Steroids*, 2015, 99: 248–258
 - 53 Koponen A, Arora A, Takahashi K, et al. ORP2 interacts with phosphoinositides and controls the subcellular distribution of cholesterol. *Biochimie*, 2019, 158: 90–101
 - 54 Olkkonen V M, Koponen A, Arora A. OSBP-related protein 2 (ORP2): unraveling its functions in cellular lipid/carbohydrate metabolism, signaling and F-actin regulation. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2019, 192: 105298
 - 55 Roden M, Shulman G I. The integrative biology of type 2 diabetes. *Nature*, 2019, 576: 51–60
 - 56 Suchanek M, Hynynen R, Wohlfahrt G, et al. The mammalian oxysterol-binding protein-related proteins (orps) bind 25-hydroxycholesterol in an evolutionarily conserved pocket. *Biochem J*, 2007, 405: 473–480
 - 57 Wang H, Ma Q, Qi Y, et al. ORP2 delivers cholesterol to the plasma membrane in exchange for phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PI(4,5)P2). *Mol Cell*, 2019, 73: 458–473.e7
 - 58 Wang X, Guo M, Wang Q, et al. The patatin-like phospholipase domain containing protein 7 facilitates VLDL secretion by modulating ApoE stability. *Hepatology*, 2020, 72: 1569–1585
 - 59 Weber-Boyvat M, Kentala H, Peränen J, et al. Ligand-dependent localization and function of ORP-VAP complexes at membrane contact sites. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72: 1967–1987
 - 60 Xu Y, Liu Y, Ridgway N D, et al. Novel members of the human oxysterol-binding protein family bind phospholipids and regulate vesicle transport. *J Biol Chem*, 2001, 276: 18407–18414
 - 61 Barbosa A D, Sembongi H, Su W M, et al. Lipid partitioning at the nuclear envelope controls membrane biogenesis. *MBoC*, 2015, 26: 3641–3657
 - 62 Pulido M R, Diaz-Ruiz A, Jiménez-Gómez Y, et al. Rab18 dynamics in adipocytes in relation to lipogenesis, lipolysis and obesity. *PLoS ONE*, 2011, 6: e22931
 - 63 Xu N, Zhang S O, Cole R A, et al. The FATP1-DGAT2 complex facilitates lipid droplet expansion at the ER-lipid droplet interface. *J Cell Biol*, 2012, 198: 895–911
 - 64 Markgraf D F, Klemm R W, Junker M, et al. An ER protein functionally couples neutral lipid metabolism on lipid droplets to membrane lipid synthesis in the ER. *Cell Rep*, 2014, 6: 44–55
 - 65 Tábara L C, Escalante R. Vmp1 establishes ER-microdomains that regulate membrane contact sites and autophagy. *PLoS ONE*, 2016, 11: e0166499
 - 66 Adeyo O, Horn P J, Lee S K, et al. The yeast lipin orthologue Pah1p is important for biogenesis of lipid droplets. *J Cell Biol*, 2011, 192: 1043–1055
 - 67 Benador I Y, Veliova M, Mahdavian K, et al. Mitochondria bound to lipid droplets have unique bioenergetics, composition, and dynamics that support lipid droplet expansion. *Cell Metab*, 2018, 27: 869–885.e6
 - 68 Cui L, Liu P. Two types of contact between lipid droplets and mitochondria. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 618322
 - 69 Cui L, Mirza A H, Zhang S, et al. Lipid droplets and mitochondria are anchored during brown adipocyte differentiation. *Protein Cell*, 2019, 10:

- 921–926
- 70 Rambold A S, Cohen S, Lippincott-Schwartz J. Fatty acid trafficking in starved cells: regulation by lipid droplet lipolysis, autophagy, and mitochondrial fusion dynamics. *Dev Cell*, 2015, 32: 678–692
- 71 Wang H, Sztalryd C. Oxidative tissue: perilipin 5 links storage with the furnace. *Trends Endocrinol Metab*, 2011, 22: 197–203
- 72 Wang H, Bell M, Sreenivasan U, et al. Unique regulation of adipose triglyceride lipase (ATGL) by perilipin 5, a lipid droplet-associated protein. *J Biol Chem*, 2011, 286: 15707–15715
- 73 Wang H, Sreenivasan U, Gong D W, et al. Cardiomyocyte-specific perilipin 5 overexpression leads to myocardial steatosis and modest cardiac dysfunction. *J Lipid Res*, 2013, 54: 953–965
- 74 Wang H, Sreenivasan U, Hu H, et al. Perilipin 5, a lipid droplet-associated protein, provides physical and metabolic linkage to mitochondria. *J Lipid Res*, 2011, 52: 2159–2168
- 75 Gemmink A, Daemen S, Kuijpers H J H, et al. Super-resolution microscopy localizes perilipin 5 at lipid droplet-mitochondria interaction sites and at lipid droplets juxtaposing to perilipin 2. *Biochim Biophys Acta (BBA) - Mol Cell Biol Lipids*, 2018, 1863: 1423–1432
- 76 Schrepfer E, Scorrano L. Mitofusins, from mitochondria to metabolism. *Mol Cell*, 2016, 61: 683–694
- 77 de Brito O M, Scorrano L. Mitofusin 2 tethers endoplasmic reticulum to mitochondria. *Nature*, 2008, 456: 605–610
- 78 Boutant M, Kulkarni S S, Joffraud M, et al. Mfn2 is critical for brown adipose tissue thermogenic function. *EMBO J*, 2017, 36: 1543–1558
- 79 Zhang Y, Liu X, Bai J, et al. Mitoguardin regulates mitochondrial fusion through mitopld and is required for neuronal homeostasis. *Mol Cell*, 2016, 61: 111–124
- 80 Freyre C A C, Rauher P C, Ejising C S, et al. MIGA2 links mitochondria, the ER, and lipid droplets and promotes de novo lipogenesis in adipocytes. *Mol Cell*, 2019, 76: 811–825.e14
- 81 Podrini C, Koffas A, Chokshi S, et al. MacroH2A1 isoforms are associated with epigenetic markers for activation of lipogenic genes in fat-induced steatosis. *FASEB J*, 2015, 29: 1676–1687
- 82 Wang J, Fang N, Xiong J, et al. An ESCRT-dependent step in fatty acid transfer from lipid droplets to mitochondria through VPS13D–TSG101 interactions. *Nat Commun*, 2021, 12: 1252
- 83 Seong E, Insolera R, Dulovic M, et al. Mutations in VPS13D lead to a new recessive ataxia with spasticity and mitochondrial defects. *Ann Neurol*, 2018, 83: 1075–1088
- 84 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. *Physiol Rep*, 2016, 4: e12662
- 85 Jägerström S, Polesie S, Wickström Y, et al. Lipid droplets interact with mitochondria using SNAP23. *Cell Biol Int*, 2009, 33: 934–940
- 86 Lodhi I J, Semenkovich C F. Peroxisomes: a nexus for lipid metabolism and cellular signaling. *Cell Metab*, 2014, 19: 380–392
- 87 Wanders R J A, Visser W F, van Roermund C W T, et al. The peroxisomal abc transporter family. *Pflugers Arch - Eur J Physiol*, 2007, 453: 719–734
- 88 Zhou L, Yu M, Arshad M, et al. Coordination among lipid droplets, peroxisomes, and mitochondria regulates energy expenditure through the CIDE-ATGL-PPAR α pathway in adipocytes. *Diabetes*, 2018, 67: 1935–1948
- 89 Binns D, Januszewski T, Chen Y, et al. An intimate collaboration between peroxisomes and lipid bodies. *J Cell Biol*, 2006, 173: 719–731
- 90 Schrader M. Tubulo-reticular clusters of peroxisomes in living cos-7 cells. *J Histochem Cytochem*, 2001, 49: 1421–1429
- 91 Kong J, Ji Y, Jeon Y G, et al. Spatiotemporal contact between peroxisomes and lipid droplets regulates fasting-induced lipolysis via pex5. *Nat Commun*, 2020, 11: 578
- 92 Joshi A S, Nebenfuhr B, Choudhary V, et al. Lipid droplet and peroxisome biogenesis occur at the same ER subdomains. *Nat Commun*, 2018, 9: 2940
- 93 Wang S, Idrissi F Z, Hermansson M, et al. Seipin and the membrane-shaping protein Pex30 cooperate in organelle budding from the endoplasmic reticulum. *Nat Commun*, 2018, 9: 2939
- 94 Roll-Mecak A, Vale R D. Structural basis of microtubule severing by the hereditary spastic paraplegia protein spastin. *Nature*, 2008, 451: 363–367
- 95 Chang C L, Weigel A V, Ioannou M S, et al. Spastin tethers lipid droplets to peroxisomes and directs fatty acid trafficking through ESCRT-iii. *J Cell Biol*, 2019, 218: 2583–2599
- 96 Zechner R, Madeo F, Kratky D. Cytosolic lipolysis and lipophagy: two sides of the same coin. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, 18: 671–684

- 97 Minami S, Yamamoto T, Takabatake Y, et al. Lipophagy maintains energy homeostasis in the kidney proximal tubule during prolonged starvation. [Autophagy](#), 2017, 13: 1629–1647
- 98 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. [Cell Metab](#), 2016, 23: 113–127
- 99 Schroeder B, Schulze R J, Weller S G, et al. The small GTPase Rab7 as a central regulator of hepatocellular lipophagy. [Hepatology](#), 2015, 61: 1896–1907
- 100 Li Z, Schulze R J, Weller S G, et al. A novel Rab10-EHBP1-EHD2 complex essential for the autophagic engulfment of lipid droplets. [Sci Adv](#), 2016, 2: e1601470
- 101 Kaushik S, Cuervo A M. The coming of age of chaperone-mediated autophagy. [Nat Rev Mol Cell Biol](#), 2018, 19: 365–381
- 102 Kaushik S, Cuervo A M. Degradation of lipid droplet-associated proteins by chaperone-mediated autophagy facilitates lipolysis. [Nat Cell Biol](#), 2015, 17: 759–770
- 103 Kaushik S, Cuervo A M. AMPK-dependent phosphorylation of lipid droplet protein PLIN2 triggers its degradation by CMA. [Autophagy](#), 2016, 12: 432–438
- 104 Dupont N, Chauhan S, Arko-Mensah J, et al. Neutral lipid stores and lipase PNPLA5 contribute to autophagosome biogenesis. [Curr Biol](#), 2014, 24: 609–620
- 105 Ogasawara Y, Cheng J, Tatematsu T, et al. Long-term autophagy is sustained by activation of CCT β 3 on lipid droplets. [Nat Commun](#), 2020, 11: 4480
- 106 Shpilka T, Welter E, Borovsky N, et al. Lipid droplets and their component triglycerides and steryl esters regulate autophagosome biogenesis. [EMBO J](#), 2015, 34: 2117–2131
- 107 Schulze R J, Krueger E W, Weller S G, et al. Direct lysosome-based autophagy of lipid droplets in hepatocytes. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2020, 117: 32443–32452
- 108 Shai N, Yifrach E, van Roermund C W T, et al. Systematic mapping of contact sites reveals tethers and a function for the peroxisome-mitochondria contact. [Nat Commun](#), 2018, 9: 1761
- 109 Ran F A, Hsu P D, Wright J, et al. Genome engineering using the CRISPR-Cas9 system. [Nat Protoc](#), 2013, 8: 2281–2308

The molecular mechanisms of contacts between lipid droplets and other organelles in lipid homeostasis regulation

LIU YeYang¹, XU MengYao², LI Peng^{1,3}, HUANG Xun² & XU Li^{1,3}

1 State Key Laboratory of Membrane Biology, Center for Life Sciences, School of Life Sciences, Tsinghua University, Beijing 100084, China;

2 State Key Laboratory of Molecular Developmental Biology, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

3 Shanghai Qi Zhi Institute, Shanghai 200030, China

With the development of imaging technology, the direct contacts among organelles are observed and reported. Organelle contact plays important roles in material exchange and organelle dynamics such as biogenesis, division and fusion. Organelle contact is mediated by specific protein machineries and some kinds of phospholipids. Lipid droplets, the intracellular reservoir of neutral lipids, are the center of lipid metabolism, and play vital roles in lipid homeostasis maintenance. Lipid droplets form intimate contact with ER, mitochondria, peroxisomes and autophagosomes/lysosomes, which regulates lipid catabolism and anabolism to maintain lipid homeostasis and cellular energy balance. ER is the main site for lipid synthesis and formation of nascent lipid droplets, while mitochondria and peroxisomes are the main sites for lipid degradation. This review summarizes the molecular mechanisms and biological functions of contact between lipid droplets and other organelles, including ER, mitochondria, peroxisomes and lysosomes and autophagosomes.

organelle contact, lipid droplet, ER, mitochondrion, peroxisome, lysosome

doi: [10.1360/SSV-2021-0102](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0102)