



内质网介导脂滴发生：成核、出芽、扩张的协同调控*

余 越^{1,2)} 季维克^{2,3,4)} 熊 娟^{1)**}

¹⁾ 华中科技大学同济医学院附属同济医院麻醉疼痛科, 老年麻醉与围术期脑健康湖北省重点实验室, 老年麻醉临床研究中心, 武汉 430030;

²⁾ 华中科技大学同济医学院基础医学院生物化学与分子生物学系, 重症人畜共患病诊治国家重点实验室, 武汉 430030;

³⁾ 深圳湾实验室, 深圳 518132; ⁴⁾ 华中科技大学细胞架构研究中心, 武汉 430030)

摘要 脂滴 (LD) 是大多数生物中广泛存在的动态细胞器。其典型结构是以中性脂质为核心, 外覆单层磷脂构成的膜结构。作为细胞内重要的代谢调控枢纽, LD 在生理稳态维持与病理进程演变中均发挥关键作用。近年来, LD 生物发生机制研究取得重要突破: 研究者建立了一个更为完善的 LD 生物发生框架, 系统阐释了 LD 如何从内质网 (ER) 中产生; 通过生物化学与生物物理学手段, 研究者系统解析了 LD 形成的关键特征, 特别是揭示了 ER 膜生物物理特性及特异性磷脂组分在其中的核心调控作用; 借助结构生物学与蛋白质组学技术, 塞厄平蛋白 (Seipin protein)、脂肪储存诱导跨膜蛋白 2 (FIT2) 等关键调控因子及其分子作用网络得以阐明。本文从分子机制层面系统综述该领域最新进展, 重点关注真核细胞 LD 成核、膜出芽及扩张过程中的分子调控细节, 特别是塞厄平蛋白、FIT2 等核心因子动态调控 LD 形态的分子机制以及 I 类蛋白和 II 类蛋白靶向 LD 的机制与途径, 并系统比较不同中性脂质核心 LD 的生物发生机制差异, 最后指出 LD 发生的关键未解决问题, 为未来研究提供了明确方向。

关键词 脂滴, 生物发生, 磷脂, 塞厄平蛋白, 脂肪储存诱导跨膜蛋白 2

中图分类号 Q291, Q26

DOI: 10.3724/j.pibb.2025.0188

CSTR: 32369.14.pibb.20250188

脂滴 (lipid droplet, LD) 是几乎所有生物体中都存在的动态细胞器。LD 是由一个中性脂质 (neutral lipid, NL) 形成的核心以及包绕此核心的单层磷脂 (phospholipid, PL) 构成。单层 PL 上结合有很多蛋白质, 这些蛋白质通过疏水发夹、两亲性螺旋 (amphipathic helix, AH) 和脂肪酸修饰与膜结合, 在 LD 生长和分解的生命周期中发挥重要作用^[1-2]。LD 在细胞中具有多种关键的生理功能。中性脂质用作三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 产生和膜合成的脂质原料。在细胞饥饿时, 细胞动员 LD 核心内中性脂质为细胞提供能量。在细胞生长期间, LD 内存储的脂质还可为膜 PL 合成提供脂质前体^[1]。最近研究指出, LD 在缓解细胞毒性应激中发挥关键作用。游离脂肪酸 (free fatty acid, FFA) 和其他脂质中间产物会诱导细胞脂毒性 (lipotoxicity), 而 LD 可以通过整合 FFA, 防止脂毒性^[3-4]。例如, 饥饿时, 膜细胞器的自噬降解

释放出 FFA, 并通过二脂酰甘油酰基转移酶 (acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase, DGAT) 1 转化为甘油三酯 (triacylglycerols, TG) 储存在 LD 中^[5], 防止 FFA 转化为酰基肉碱导致的线粒体功能障碍。LD 在缓解内质网应激 (endoplasmic reticulum stress, ERS) 中也发挥关键作用, 通过整合过量脂肪酸或从膜中去除特定的 PL 纠正脂质组成, 并且协助错误折叠蛋白质的清除^[6]。

临床上, LD 功能的失调与代谢功能障碍相关的脂肪性肝病 (metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease, MASLD)、肥胖、2 型糖尿

* 华中科技大学同济医学院附属同济医院基金重点项目 (2024A29), 国家自然科学基金 (81901166, 32371343, 92354304) 和深圳湾学者项目资助。

** 通讯联系人。

Tel: 18672947792, E-mail: juanxiong1207@163.com

收稿日期: 2025-04-27, 接受日期: 2025-06-27

病 (diabetes mellitus type 2, T2DM)、神经退行性疾病、癌症等多种疾病相关^[4]。a. 脂滴包被蛋白 (Perilipin, PLIN) 与 LD 和 MASLD 之间的关系: MASLD 是一种以 LD 过度积累为特征的疾病, 多种 LD 相关蛋白参与 MASLD 的发病。例如, PLIN2 的肝脏特异性缺失降低了小鼠的 TG 含量, 减少了 LD 积累, 从而防止饮食诱导的肝脂肪变性^[7]。高脂饮食喂养的 *PLIN5* 敲除小鼠显示, 肝脏脂肪沉积减少, LD 丰度和大小降低, 肝纤维化程度降低^[8-9]。由于 LD 积累, 肝细胞会压迫窦周隙, 导致窦性毛细血管压迫, 从而增加肝内阻力和门静脉压导致缺氧^[10-11]。缺氧导致肝星状细胞 (hepatic stellate cell, HSC) 活化, 进而诱导 MASLD 进一步发展^[12]。b. LD 表型异常与肥胖和 T2DM 的关联: 细胞死亡诱导的 DFFA 样效应蛋白 (cell death-inducing DFFA-like effector, CIDE) A 和 CIDEC、PLIN2 的表达在成年肥胖女性的内脏脂肪组织中上调^[13]。这些蛋白质具有明显的促肥胖作用, 可能与单房大 LD 的形成相关^[14]。这种过大的 LD 是细胞脂代谢紊乱的重要表型。值得注意的是, 在 T2DM 患者骨骼肌 II 型肌纤维中同样观察到异常增大的 LD 伴随线粒体含量减少的现象^[15-16], 这一病理特征与白色脂肪组织和棕色脂肪组织的代谢差异形成鲜明对比, 室温下, 棕色脂肪中富含小体积 LD 及高密度线粒体网络^[17], 赋予其通过产热抵抗肥胖及胰岛素抵抗的独特功能^[18]。尽管 LD 形成最初是细胞应对高糖/高脂通量的适应性保护机制, 但过度累积导致大 LD 生成则标志着代谢稳态失衡, 可能通过破坏细胞器相互作用诱发病理进程。c. 小胶质细胞 LD 积累与神经退行性疾病的关联: 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 风险基因载脂蛋白 E 4/4 (apolipoprotein E 4/4, *apoE* 4/4) 可显著激活小胶质细胞 LD 生物发生, 导致 tau 蛋白异常磷酸化并加剧神经炎症^[19]。d. LD 在肿瘤代谢重塑中的作用: 多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acids, PUFAs) 因其易氧化特性可诱发铁死亡, 而肿瘤细胞通过将 PUFAs 储存在 LD 中性脂核中, 有效降低质膜 PUFA 含量, 从而逃逸氧化损伤^[20-22]。基于此, 靶向 LD 生物发生以诱导铁死亡已成为抗肿瘤治疗的新兴策略。上述发现共同揭示了 LD 动态平衡在疾病发生中的枢纽地位, 其调控机制解析将为相关疾病防治提供新视角。

近年来, LD 作为动态细胞器的重要生物学功

能及其病理关联性研究, 已成为细胞生物学领域的前沿热点。LD 生物发生机制研究的范式革新催生系列突破性发现: 从经典中性脂质透镜模型到基于膜曲率调控的协同组装理论, 研究者逐步揭示内质网 (endoplasmic reticulum, ER) 介导的 LD 生成精密调控网络。本综述整合 LD 生物发生的经典理论模型与最新分子解析成果, 重点阐释成核 (中性脂质相分离)、出芽 (PL 不对称分布驱动膜重构) 及扩张 (局部脂质合成与 PL 表面重塑) 三阶段的多层级调控网络, 特别是塞厄平蛋白 (Seipin protein)、脂肪储存诱导跨膜蛋白 2 (fat storage-inducing transmembrane protein 2, FIT2) 等核心因子动态调控 LD 形态的分子机制以及蛋白质靶向 LD 的机制与途径, 并系统比较不同脂质类型 LD 的生物发生机制差异及其特异性调控因子与疾病的关联, 为深入理解 LD 生物学功能与疾病干预策略提供系统视角。

1 LD生物发生概述

目前被广泛接受的 LD 生物发生的模型包括 4 个步骤^[1, 2, 23-25]。第一阶段: 中性脂质合成。ER 膜中, DGAT1/2 (酵母同源蛋白 Dga1/Lro1) 催化 TG 合成, 同时脂酰辅酶 A-胆固醇酰基转移酶 (acyl-CoA: cholesterol acyltransferase, ACAT) (酵母同源蛋白 ARE1/ARE2) 介导固醇酯 (sterol esters, SE) 生成。第二阶段: 相分离驱动的成核。当内质网双层内中性脂质浓度超越临界成核阈值时, TG/SE 通过疏水相互作用发生相分离, 形成中性脂质透镜体 (neutral lipid lens)。第三阶段: 膜重构介导出芽。中性脂质透镜体在 FIT2 及 ER 膜形态调节蛋白, 如 Pex30 (peroxisomal membrane protein Pex30) 的协同作用下, 通过 PL 不对称分布诱导膜曲率和表面张力变化, 最终以出芽形式形成初始脂滴 (initial lipid droplets, iLDs)。第四阶段: LD 的成熟。iLDs 通过 ER-LD 桥接结构招募脂质合成酶 (如甘油三磷酸酰基转移酶 4 (glycerol-3-phosphate acyltransferases, GPAT4)、DGAT2), 实现局部脂质合成与表面扩张, 最终形成成熟 LD。

2 LD成核

2.1 LD成核的本质是相分离的过程

从热力学角度而言, LD 成核标志着中性脂质-膜系统相分离的启动^[26]。新合成的中性脂质以分子形式分散于 ER 膜双层中, 当其局部浓度超越临

界成核浓度 (critical nucleation concentration, CNC) 时, 中性脂质克服成核能垒发生相分离, 形成离散的中性脂质透镜体。CNC 的数值受多重因素调控, 包括: a. 膜曲率——高曲率区域可降低 CNC; b. PL 组成——不饱和 PL 占比升高显著降低 CNC; c. 脂质-蛋白质相互作用——如塞厄平蛋白通过疏水结构域浓缩中性脂质^[27-30]。以典型磷脂双层体系 (1-棕榈酰-2-油酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱, POPC) 为例, 实验测得甘油三酯的 CNC 为 3%~5% (w/w, TG/PL)^[31]。值得注意的是, 初始成核事件发生后, ER 膜中残余中性脂质仍维持溶解状态, 但由于新生 LD 的形成通过消耗 ER 膜双层中的中性脂质, 使其浓度回落至 CNC 以下, 从而形成负反馈抑制后续成核过程。

2.2 膜曲率能有效降低 CNC 促进 LD 成核

膜曲率作为脂质双层的核心介观特性, 是定量表征膜弯曲程度的物理参数^[32]。其数值与弯曲程度呈正相关, 即曲率越大表明膜三维形变越显著。从系统生物学视角来看, 膜曲率的形成本质上是膜蛋白 (如塞厄平蛋白)、脂质分子 (如锥形 PL) 与机械力 (如细胞骨架牵引) 动态相互作用的综合结果^[33]。研究证实, LD 的生物发生优先发生于 ER 小管区域, 而非平坦膜域, 这与其高曲率特性直接相关^[27, 34]。

2.2.1 膜曲率促进成核的分子机制

高曲率通过以下途径降低成核能量屏障与 CNC。a. 化学势梯度驱动: 曲率增加导致 PL 分子排列间隙扩大, 使 TG 更易暴露于亲水环境, 从而升高 TG 在 PL 双层中的化学势。根据热力学第二定律, TG 分子自发从高化学势区 (PL 双层) 向低化学势区 (透镜体) 迁移, 促进相分离^[27]; b. 几何限制效应: 当 ER 小管半径减小 (曲率增大) 时, 分子动力学模拟显示游离 TG 会从弯曲区域向平坦膜域迁移, 证实高曲率环境不利于游离 TG 稳定存在^[27]。但是, 膜曲率增加 TG 分子化学势的机制尚未完全阐明, 需要更多的研究进一步探索。

2.2.2 曲率生成的关键调控因子

过氧化物酶体膜蛋白 Pex30 与塞厄平蛋白作为膜曲率的重要调控因子, 通过以下机制维持 ER 膜拓扑结构: a. Pex30 的网状同源结构域 (reticulon-homology domain, RHD) 通过嵌入膜外层诱导正曲率^[35]; b. 塞厄平蛋白寡聚体形成环状结构, 产生局部膜张力梯度^[35]。当 Pex30 与塞厄平蛋白双缺失时, ER 膜呈现低曲率态, 导致 TG 异常积聚形

成巨型 ER 结构域, 此时 CNC 显著升高, 成核过程被完全抑制^[35]。该现象提示膜曲率缺失可通过提高能量屏障阻断 LD 生成。

2.3 膜 PL 组成调控中性脂质相分离的分子机制

2.3.1 膜物理特性调控

高水平的不饱和磷脂酰乙醇胺 (phosphatidylethanolamine, PE) 与甘油二酯 (diacylglycerol, DAG) 能促进 TG 在低浓度下发生相分离, 进而驱动 PL 成核^[28]。机制如下: a. 锥形 PL 降低 PL 双分子层刚度^[36]; b. 锥形脂质增加了 PL 分子之间的空隙, 模拟了正曲率的效果, 使 TG 分子更多的暴露在水分子中, 增加了 TG 与 PL 双层之间的化学势, 促进成核^[36]; c. 塞厄平蛋白可以通过结合 TG 和 DAG, 促进 TG 与 DAG 的共聚集, 形成更大的脂质透镜体, 诱导朝向胞质的小叶产生正曲率^[37]。但是, 为了使透镜体从 ER 出芽, DAG、PE 浓度必须降低^[38]。锥形 PL 在 LD 发生不同阶段浓度的精细调节需要进一步探索。

2.3.2 化学势调控

PL 分子通过范德华力与 TG 分子相互作用, 影响 TG 在膜双层的化学势, 从而影响成核^[28]。与增加 PL 饱和度的结果一致, 增加 TG 分子中酰基链的饱和度也会抑制成核。

2.3.3 蛋白质表达调控

磷脂酰肌醇 (phosphatidylinositol, PI) 与磷脂酰丝氨酸 (phosphatidylserine, PS) 可上调塞厄平蛋白、DGAT2 及 PLIN2 等 LD 生成因子的表达水平, 形成促成核微环境^[39]。

2.4 塞厄平蛋白的结构特征与成核功能

2.4.1 塞厄平蛋白的结构

塞厄平蛋白是一种 ER 膜整合蛋白, 通过其独特的空间构象精确调控 LD 成核位点选择及生物发生全过程^[30, 40-41]。冷冻电镜结构解析显示, 塞厄平蛋白包含 2 个跨膜结构域 (transmembrane domains, TMs) 及 1 个环状管腔结构域, 其 N 端与 C 端均定位于胞质侧^[42-43]。该管腔结构域由 8 条 β 链形成 β 三明治折叠, 并与 3 个 α 螺旋构成的疏水螺旋结构 (hydrophobic helix, HH) 共同组成功能核心 (图 1a)。塞厄平蛋白以物种特异性寡聚形式发挥功能: 人类、酵母及果蝇中分别形成 11、10 及 12 聚体 (图 1a, b), 其寡聚化状态是维持 TG 分子浓缩能力的关键结构基础^[42]。

最近还报道了酵母塞厄平蛋白的两种结构。在其中一个结构中, 塞厄平蛋白环的 10 个单体看起

来相同^[44] (PDB: 7OXP), 而另一个结构显示, 单体在两个不同的构象之间交替^[42] (PDB: 7RSL)。A 构象中, N 端 TM 螺旋向寡聚体中央倾斜 40°, C 端开关区域采用扭结 α 螺旋连接到 C 端 TM 螺旋。B 构象中, 扭结 α 螺旋伸展为一个与 C 端 TM 螺旋相接的连续螺旋, 其 N 端 TM 螺旋进一

步向寡聚体中心倾斜^[42] (60°)。这种构象变化可能有助于 TG 的相分离和 LD 出芽 (3.3 节详述)。尽管如此, 需要进一步研究验证同一环内是否存在多种塞厄平蛋白构象。此外, 以人类塞厄平蛋白为例, 尚不清楚交替构象如何在具有奇数个单体的塞厄平蛋白环中发挥作用。

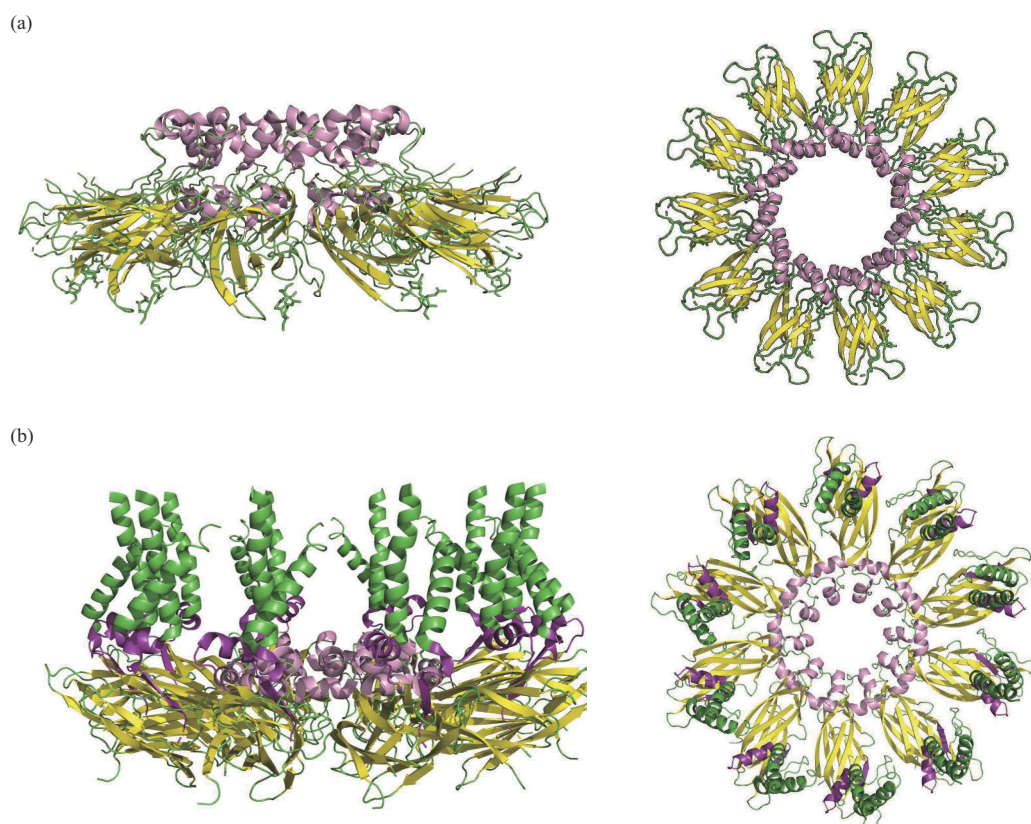


Fig. 1 Seipin protein structure

图1 塞厄平蛋白结构

原始冷冻电子显微镜结构来自PDB数据库, 用PyMol可视化。(a) 人塞厄平蛋白 (PDB: 6DS5) 的侧视图和俯视图。疏水螺旋 (粉红色); β 三明治折叠 (黄色)。(b) 酵母 Seil (PDB: 7OXP) 的侧视图和俯视图。中心螺旋 α_1 , α_2 (粉红色); β 三明治折叠 (黄色); 开关区: 残基 40~55 和 231~243 (紫色); 跨膜结构域 (绿色)。

2.4.2 脂滴组装因子1-塞厄平蛋白复合物的相分离调控机制

塞厄平蛋白与脂滴组装因子 1 (lipid droplet-assembly factor 1, LDAF1) 形成动态复合体, 通过以下机制促进成核。a. 空间隔离效应: 复合体核心区形成 PL 排阻微环境, 阻断 TG 与膜 PL 侧链的相互作用, 驱动 TG 分子自发聚集^[30, 45] (图 2); b. 能量屏障调控: LDAF1 显著降低成核所需临界 TG 浓度, 使相分离能在亚阈值条件下启动^[30, 45]。

在酵母中, 塞厄平蛋白跨膜结构域通过富集 TG 分子并引导其进入复合体腔室, 随后 ER 膜蛋白

Ldb16 (功能同源于人塞厄平蛋白的 HH 结构域) 利用羟基残基与 TG 形成氢键网络, 进一步促进相分离^[44, 46]。尽管 LDAF1-Seipin 复合体的精确构象尚未解析, 现有证据表明, 该复合体通过“募集-浓缩-隔离”三级调控模式实现 TG 分子稳态聚集。

LDAF1 的确切作用机制及其与塞厄平蛋白形成复合物的组装过程尚未完全阐明。尽管冷冻电镜研究已初步揭示塞厄平蛋白复合物的结构, 但对其作用机制的理解仍需深入。未来针对完整塞厄平蛋白复合物及其相互作用蛋白质的研究, 将有助于深入解析这些蛋白质如何协同调控 LD 发生的分子

基础。

2.4.3 塞厄平蛋白的双重曲率调控功能

塞厄平蛋白兼具膜曲率传感与诱导双重功能。

a. 曲率传感: 通过N端结构域特异性识别ER小管高曲率区域^[27]; b. 曲率生成: 在TG/DAG富集区域, 塞厄平蛋白寡聚体通过不对称膜嵌入诱导胞质侧正曲率^[37]。

这种双向调控使塞厄平蛋白形成正向反馈环路: 局部曲率增加→降低CNC及成核能垒→促进TG聚集→进一步增强曲率。当塞厄平蛋白密度低于阈值时, 自发成核占主导, 导致LD形态异常及脂肪代谢紊乱^[22, 34]。

2.4.4 塞厄平蛋白介导的酶促反应网络

塞厄平蛋白通过多层级调控TG合成酶的空间分布与活性。a. 酶复合体组装: 在酵母中, 塞厄平蛋白与DAG调控因子Nem1共定位于ER亚结构域, 形成TG合酶(Dgal/Lro1)的招募平台^[47]; b. 膜形态偶联: 下游蛋白Pex30通过诱导ER膜重构, 促进酶复合体与成核位点的空间偶联; c. 酶活性维持: 酵母PLIN同源蛋白Pet10p通过稳定Dgal的催化构象, 将TG合成速率提升3.2倍^[48]。这些发现揭示了塞厄平蛋白作为“成核枢纽”整合结构生物学与酶动力学的核心作用。

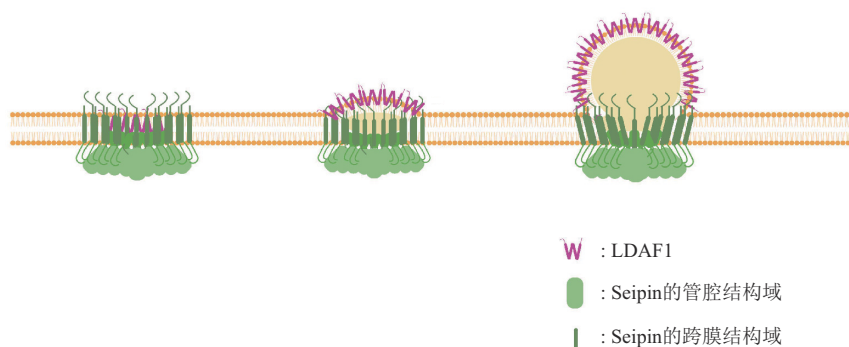


Fig. 2 The LDAO1-Seipin complex

图2 脂滴组装因子1-塞厄平蛋白复合物

LDAO1-Seipin复合物可促进TAG的聚集和成核。随着该过程的进行, LDAO1与塞厄平蛋白分离并重新分布到出芽表面, 从而降低表面张力, 促进LD的出芽。LDAO1: 脂滴组装因子1 (lipid droplet assembly factor 1)。

3 LD出芽

3.1 PL几何特性调控出芽方向

膜PL分子由亲水头基与疏水酰基链构成, 其几何形态由头基与酰基链的体积比决定^[49]。根据脂质形状理论, 不同几何形态的PL对膜曲率产生差异化影响: a. 倒锥形PL, 如PI、溶血磷脂酰胆碱 (lyso-phosphatidylcholine, Lyso-PC), 头基体积大于酰基链, 诱导正曲率, 促进脂滴向胞质侧出芽^[50]; b. 锥形PL (如PE、磷脂酸 (phosphatidic acid, PA)、DAG), 头基体积小于酰基链, 形成负曲率, 抑制出芽进程^[51]。该调控机制源于PL分子自发曲率对膜双分子层力学性质的改变——正曲率降低出芽能垒, 而负曲率增加膜融合^[51]。

3.2 PL和蛋白质分布影响表面张力和LD出芽

研究指出, LD发生受表面张力的调控。高表

面张力导致中性脂质分散在膜中, 低表面张力可促进中性脂质包装形成中性脂质透镜体。LD出芽的方向性由ER膜管腔小叶和胞质小叶表面张力的不对称性决定^[52]。只有胞质小叶相比管腔面具有更低的表面张力, LD才会向胞质侧出芽。

表面张力的精细调控由PL和蛋白质分布实现^[50]。a. 在磷酸胆碱胞苷转移酶 (choline-phosphate cytidylyltransferase 1, PCT1) 和CTP: 磷酸胆碱胞苷酰转移酶1 (CTP: phosphocholine cytidylyltransferase, CCT1) 双敲除细胞中, 胞质侧PL密度降低, 影响胞质侧膜表面张力, 导致出芽完全抑制^[53]; b. 不同种类的PL对表面张力影响存在差异: PI具有降低表面张力的趋势促进出芽, 相反, PE和PA增加表面张力, 导致出芽受限^[50]; c. 蛋白质在双层小叶的不对称分布降低胞质侧表面张力促进出芽^[52] (如LDAO1、PLIN)。

目前对该过程的系统认知仍存在空白。关键未解决问题包括：ER膜内外小叶的PL分布如何被精细调控，以形成低且不对称的膜张力？除已知因子（如LDAF1、PLIN）外，还有哪些胞质侧定位蛋白质通过调控膜曲率促进定向出芽？

3.3 塞厄平蛋白跨膜结构域动态构象调控出芽

最新结构生物学研究揭示了塞厄平蛋白的TM结构域在LD出芽中的重要作用^[42]，具体作用机制如下。a. 构象门控机制。封闭构象：促进TG相分离与成核，此时TM结构域形成紧凑空间限制PL扩散；开放构象：由管腔结构域与TM段间的开关区构象变化触发，允许中性脂质透镜体膨出形成出芽前体^[42]。b. 机械力传导：TM结构域通过形成收缩颈部结构，产生局部膜张力梯度，驱动扁平透镜体向三维LD转化^[54]。冷冻电镜技术结合AlphaFold2预测表明，该颈部结构的稳定性依赖于TM螺旋边界的带电残基与胞质小叶的膜界面之间的强烈静电相互作用。虽然已有数据支持塞厄平蛋白TM结构域在成核和出芽中发挥作用，但TM结构域如何影响LD出芽的确切机制尚不清楚。

3.4 塞厄平蛋白介导磷脂稳态的时空调控

塞厄平蛋白通过多维度调控PL分布保障出芽精准性。a. PA稳态调控：管腔结构域特异性结合PA，维持其局部浓度，防止PA过量聚集引发的膜融合异常^[55]；TM结构域通过构象依赖的方式，调控PA稳态^[56]。目前，尽管塞厄平蛋白对PA浓度的调节起重要作用，但人或酵母塞厄平蛋白中PA的确切结合位点仍未确定。b. 磷脂酰肌醇3磷酸（phosphatidylinositol-3-phosphate, PI3P）-双FYVE结构域包含蛋白1（double FYVE domain containing protein 1, DFCP1）轴调控：在塞厄平蛋白缺失细胞中，PI3P异常累积，通过抑制DFCP1的活性，导致出芽缺陷^[57]。因此，PI3P和DFCP1可能是LD发生的调控新因子。未来研究需阐明塞厄平蛋白如何调控PI3P的分布、DFCP1如何调控LD的生长，以及塞厄平蛋白、DFCP1和PI3P在LD生物发生中的复杂调控关系。

目前已发现，尽管塞厄平蛋白对LD发生具有重要作用，但是塞厄平蛋白对于LD发生并不是必需的。首先，塞厄平蛋白缺失细胞中仍然存在LD。尽管这些LD大小存在异常^[58-59]，但它们的表面单层与ER膜分离，表明这些LD出芽并没有受到影响。其次，PL脂和膜曲率能够以不依赖蛋白质的方式在体外促进中性脂质成核和LD出芽^[27, 50]，表

明LD能够以不依赖塞厄平蛋白的方式发生。值得关注的是，这些不依赖塞厄平蛋白的LD在脂质和蛋白质组成上可能与依赖塞厄平蛋白的LD有显著不同，提示这两种类型LD在功能上也存在显著差异。

3.5 参与LD出芽的其他关键蛋白质

3.5.1 FIT家族蛋白的膜拓扑调控功能

FIT蛋白家族是进化保守的内质网整合膜蛋白^[58]，其中FIT2在所有组织中广泛表达并具有以下核心功能。a. DAG稳态调控。研究表明，FIT2通过降低LD发生位点的DAG水平，防止DAG过量积累导致的负曲率效应，促进LD出芽^[38]。另有研究表明，FIT2能够体外结合DAG和TG^[60]，并作为酰基辅酶A焦磷酸酶（acyl-CoA diphosphatase）在ER管腔侧催化酰基辅酶A裂解^[61]，维持ER脂质稳态。目前，FIT2调控LD发生的具体调节机制尚不清楚。一种可能的机制是FIT2将DAG结合在管腔侧从而降低胞质侧小叶的DAG浓度，促进LD出芽。另一种可能是FIT2的酶活性有助于调节局部膜脂质组成，从而调控ER膜的曲率和表面张力，保证出芽的有效进行。b. ER稳态维持。FIT2缺失导致TG在ER异常积累，影响ER功能，诱发ER稳态失调，间接抑制LD发生^[62]。c. 膜曲率诱导。FIT2通过与ER小管塑形蛋白（受体表达增强蛋白5（receptor expression-enhancing proteins, REEP5）和网状蛋白4（reticulon, RTN4））以及Septin蛋白相互作用，可能参与稳定出芽位点的膜曲率，促进LD出芽^[63]。目前这些FIT2相互作用蛋白如何调控FIT2的功能及其在LD发生/出芽的准确的分子机制仍不明确。未来的研究需要回答以下重要问题：a. FIT2调控LD发生是否依赖ER小管塑形蛋白对ER结构的调控作用？b. FIT2的酰基辅酶A焦磷酸酶活性是否直接受这些相互作用蛋白的调控？

3.5.2 Pex蛋白家族的膜重构功能

Pex30的双重结构域协同机制包括两方面。a. 网状同源结构域RHD：通过疏水楔入效应诱导ER膜正曲率，形成LD出芽前体^[64]；b. Dysferlin结构域DysF：兼具DAG结合与膜修复功能，通过Ca²⁺依赖的膜脂重塑维持出芽位点膜完整性^[64-65]。与Pex30同属Pex蛋白家族的Pex23、Pex29蛋白最近也被发现参与LD发生，其缺失导致LD出芽异常，LD数量减少^[66]。

Pex蛋白家族是过氧化物酶体形成的重要蛋白

质, 它们中的一部分目前已被发现在LD生物发生中发挥重要作用^[35, 66-67], 提示过氧化物酶体与LD生物发生很可能存在密切联系。最近的研究发现, 在拟南芥中发现了特化的ER亚结构域(被命名为“ER巢”)。过氧化物酶体和LD均在ER巢内发生, 提示这两种细胞器很可能在生物发生过程中相互关联。ER巢还定义了过氧化物酶体-LD的接触位点^[68], LD内的脂肪可以被动员到过氧化物酶体内进行 β 氧化, 表明过氧化物酶体与LD在能量代谢上协同作用。

3.5.3 PLIN家族蛋白的表面张力调控

脂滴包被蛋白(如哺乳动物PLIN)是最丰富的LD相关蛋白^[69]。哺乳动物有5个PLIN基因, 除了PLIN1作为I类LD蛋白(从ER靶向LD)^[70], 其余均为LD表面的II类蛋白(从胞质靶向LD)。其中PLIN4通过一个很长的两亲性螺旋与LD内部的中性脂质直接结合, 可能通过降低表面张力促进出芽^[71]。酵母中也有类似的机制, 在中性脂质透视镜体形成后, 需要募集Pet10p(一种酵母PLIN)到胞质侧降低表面张力促进出芽^[47]。除此之外, 一项最近的研究提示, PLIN3可能通过招募LD发生因子塞厄平蛋白和Pex30在LD形成的很早期阶段发挥作用^[72]。

4 LD成熟阶段的动态重塑

4.1 从初始LD生长为成熟LD需要中性脂质合成与膜PL重塑

iLDs通过中性脂质持续沉积与膜扩张, 逐步转化为成熟LD^[73]。纳米LD出芽: ARF1/COP-I复合物通过三磷酸鸟苷(guanosine triphosphate, GTP)水解驱动纳米级LD从iLD表面出芽^[74], 导致母体LD表面PL覆盖率降低, 界面张力升高; 然后, 高张力诱导iLD与ER膜接触区域发生选择性融合, 形成ER-LD膜桥结构^[75]; 最后, 通过膜桥通道, TG合成限速酶GPAT4与DGAT2从ER定向转运至LD表面, 实现局部脂质合成^[75]。

最新的研究鉴定了ER-LD膜桥建立所必需的蛋白质成分, 包括Rab蛋白、系链蛋白、SNAP受体蛋白(SNAP receptor, SNARE)、参与组织ER出口位点(ER exit site, ERES)的蛋白质。在膜融合因子协同作用下, LD与ERES形成ER-LD膜桥, 允许GPAT4、DGAT2等蛋白质靶向LD, 从而促进LD进一步成熟, 形成成熟LD——eLDs^[76-77](图3)。尽管已经鉴定了ER-LD膜桥建立的因子,

但是ER-LD膜桥的结构特性及形成机制还未完全阐明, 是否有更多的因子参与膜桥的建立和维持? 当LD成熟后膜桥如何消失以使eLDs与ER分离? 还有哪些蛋白质通过膜桥靶向LD及其在LD成熟中的功能? 这些重要问题都需要进一步研究探索。

LD扩增的过程中也必然伴随着LD膜的扩张, 需要获取新的PL来满足不断增大的LD对PL的需求。目前主要有3种机制介导PL单层的扩张。首先是PL从ER向LD扩散, 但是LD与ER脂质双层的界面处存在PL扩散屏障, PL扩散速率显著慢于脂质双层间的扩散速率^[78]。研究指出, 钙结合素3 β (calyculin 3 β , CLSTN3B)可以利用富含精氨酸的区域诱导膜融合和ER-LD接触, 促进ER到LD的PL扩散^[79]。但是PL为什么能保持在LD上而不会通过ER-LD接触重新返回ER, 仍然未知。第二种机制是PL合成酶在LD表面合成PL。例如, 在果蝇细胞中, PC合成限速酶CCT- α 从胞质靶向脂滴, 从而能在LD表面原位合成PC促进LD膜扩张^[80]。第三种机制涉及到脂质转移蛋白(lipid transfer protein, LTP)的功能。液泡分选蛋白13(vacuolar protein sorting 13, VPS13)和自噬相关蛋白2(autophagy protein 2, ATG2)可以在ER与LD间充当桥梁, 介导PL通过其疏水凹槽内进行转移^[81]。VPS13A、VPS13C、ATG2敲除或突变均能影响LD的数量, 提示这些LTP可能在LD发生中发挥作用^[82-84]。另一类穿梭型LTP也可能参与LD的PL转运。氧化固醇结合相关蛋白5(oxysterol binding related protein 5, ORP5)与氧化固醇结合相关蛋白8(oxysterol binding related protein 8, ORP8)是典型的穿梭型LTP, 通过与塞厄平蛋白相互作用调节其募集到LD发生位点, 促进LD发生^[85]。尽管这一机制看似与PL转运无关, 但研究发现, 在ORP5缺乏的细胞中LD表面磷脂酰肌醇4磷酸(phosphatidylinositol-4-phosphate, PI4P)水平升高, 而PS水平降低^[86]。因此, ORP5可能通过协同转运PI4P和PS促进LD发生。值得一提的是, 我们近期的工作发现, Sec14L6, 作为一种穿梭型LTP, 通过在ER与LD之间转运磷脂酰肌醇磷酸, 调控LD的膜脂稳态, 促进LD发生^[87], 进一步扩展了对LTP在LD发生中的作用的认知。

4.2 LD-LD融合形成巨型LD

到目前为止, 研究人员发现了两种LD融合模式。一种模式是在哺乳动物中发现的, 且主要在脂肪细胞中阐明^[88-89]。两个LD的PL单层膜未融合,

而是通过 CIDEC 蛋白介导使 TG 从小 LD 缓慢转移到大 LD。研究表明, CIDEC 组装产生介导脂质转移的动态特化结构, 介导中性脂从小 LD 定向转移到大 LD^[89]。另一种模式是已在哺乳动物、酵母、果蝇等多物种中发现的 LD 融合模式, 其中两个 LD 的膜直接融合伴随 TG 迅速融合。敲除塞厄平蛋白提高 PA 水平或减少 LD 表面的 PC 水平可以增强此过程^[80, 90-91], 提示 PL 在 LD 融合中的关键作用。最新的研究进一步阐明了 PL 单层膜的作用: ω -3 C20-PC 增加了 LD 膜的流动性, 从而促进 LD 融合^[92]。

然而, 许多关键问题仍未阐明。第一, 两种 LD-LD 融合模式之间有何关联? LD 是随机采用其中一种模式, 还是其选择取决于特定的组织或细胞类型? 第二, 在白色脂肪细胞和脂肪肝(肝脂肪变性)中观察到 LD 因融合而显著增大, 而在棕色脂肪细胞和正常肝细胞中则主要为小 LD。那么, 这种 LD-LD 融合调控 LD 大小的机制, 其病理意义是什么?

5 蛋白质靶向LD的机制和途径

LD 的表面覆盖着多种蛋白质。在典型的哺乳动物细胞中, LD 蛋白质组包含超过 100 种蛋白质^[93], 这些蛋白质参与 LD 的生长、出芽、成熟、降解以及 LD 与其他细胞器的相互作用^[94]。LD 蛋白如何特异性靶向 LD 一直是研究的热点。根据其靶向途径, LD 蛋白质分为 I 类蛋白和 II 类蛋白。I 类蛋白即最初插入 ER 膜然后移动到 LD 表面, II 类蛋白最初在胞质溶胶中翻译, 随后结合到 LD 表面^[1, 94]。

5.1 I类蛋白的LD靶向机制

I 类蛋白的特点是通过疏水发夹结构与膜结合, 并能在 ER 双层与 LD 表面之间移动, 但是如何控制 I 类蛋白在这两个细胞器的转运尚不清楚。目前主要发现 4 种调控机制:

a. 正电荷残基与色氨酸介导的 LD 定位及自由能差。例如, 源自 GPAT4 的 LiveDrop (一个小的疏水发夹序列) 通过其正电荷残基从 ER 双层的管腔界面重定位到 LD 单层表面, 使色氨酸残基得以插入 PL 堆积缺陷 (packing defect), 降低蛋白质自由能, 从而稳定定位于 LD 表面^[95]。

b. 蛋白质相互作用。与含 UBX 结构域的蛋白 8 (UBX domain-containing protein 8, UBXD8) 相互作用的蛋白质 (如 PEX19 和 UBAC2) 影响其 LD

靶向^[96-97]。其中, 过表达 PEX19 促进 UBXD8 向 LD 转运^[96], 而多穿膜 ER 蛋白 UBAC2 则限制其 LD 靶向^[97], 但其具体机制尚未阐明。

c. 蛋白质与 TG 分子的相互作用。LD 表面磷脂酰胆碱/磷脂酰乙醇胺 (PC/PE) 比值降低会增加 PL 堆积缺陷, 导致具有疏水螺旋结构且对 TG 分子亲和力高的蛋白质更易滞留在 LD 上^[98]。

d. 蛋白质在 ER 中的降解速率快于 LD。这导致蛋白质在 LD 表面相对积累^[99], 然而, 此机制不足以解释 LiveDrop 在 LD 的特异性富集现象^[95]。

总而言之, 上述机制均倾向于使 I 类蛋白更稳定地定位于 LD 表面而非 ER, 从而驱动蛋白质从 ER 向 LD 的分配。

当前局限性与未来方向: 目前尚无统一机制能解释所有 I 类蛋白向 LD 分配的驱动力。尽管从热力学和蛋白质相互作用角度提出了一些基础模型, 但仍缺乏完整的理论框架。未来研究可能发现其他调控 I 类蛋白靶向的新机制, 或揭示一种统一的调控原理, 后者很可能与 LD 单层膜和 ER 双层膜之间固有的生物物理性质差异密切相关。

5.2 I类蛋白的早期与晚期靶向途径

I 类蛋白靶向 LD 的途径最近有了突破性的进展: 近期研究发现, I 类蛋白靶向 LD 存在不同途径。早期靶向蛋白 (如 UBXD8) 通过包含塞厄平蛋白的 LD 组装复合物在 LD 上积累 (图 3)。与此相反, 一些蛋白质 (如 GPAT4) 则通过 ER 与 LD 之间的膜桥结构进行晚期靶向^[76] (4.1 节中所述膜融合机制)。目前尚不清楚 I 类蛋白选择早期或晚期靶向途径的意义。一种假说认为, 抑制晚期靶向蛋白过早进入 LD 可避免新生 LD 表面蛋白质过度拥挤, 从而有利于维持促进 LD 出芽所需的特定生物物理条件, 而晚期靶向蛋白则可能参与新生 LD 的进一步成熟和表面重塑。这或将成为未来的研究方向。值得注意的是, LiveDrop 比全长 GPAT4 靶向 LD 的速度更快, 这与分子尺寸无关, 而可能与其缺失的 C 端结构域相关——因为 GPAT4 的 C 端截短体表现出与 LiveDrop 相似的早期靶向特性^[95]。然而, GPAT4 的 C 端区域如何调控其靶向时序仍不清楚。

5.3 II类蛋白的LD靶向机制

II 类蛋白 (如 CCT- α 、PLIN) 直接从细胞质募集, 通过其两亲性螺旋 (amphipathic helix, AH) 靶向 LD^[94]。该过程主要分为三步: 首先, 未折叠的 AH 在细胞质中处于高自由能状态; 其次, AH

中的大型疏水残基与LD表面的PL堆积缺陷结合; 最后, AH在LD表面折叠, 使蛋白质达到较低自由能的稳定状态锚定于LD^[100]。此外, 某些蛋白质的两亲性螺旋直接与TG相互作用, 促进它们与LD的结合^[71, 101]。

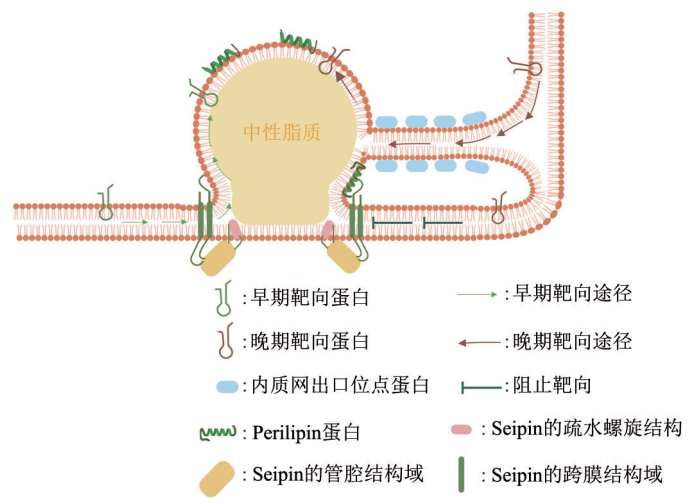


Fig. 3 Two pathways mediating the targeting of class I proteins from ER to LD

图3 介导I类蛋白从ER到LD的两种途径

早期靶向途径: UBXD8等蛋白质通过包括塞厄平蛋白的脂滴组装复合物靶向脂滴, 并且塞厄平蛋白防止晚期靶向蛋白早期靶向LD。晚期靶向途径: 在ERES上形成的膜桥使得对脂质代谢和脂滴表面重塑非常重要的蛋白质(如GPAT4)能够从ER进入LD。ERES: 内质网出口位点(endoplasmic reticulum exit site); GPAT4: 甘油三磷酸酰基转移酶4(glycerol-3-phosphate acyltransferase 4); UBXD8: 包含UBX结构域的蛋白8(UBX domain-containing protein 8)。

6 SE LD和RE LD的生物发生及与疾病的关联

6.1 SE LD和RE LD存在独特的生物发生机制

近年研究逐渐关注TG LD以外的亚群, 如固醇酯(sterol esters, SE) LD和视黄酯(retinyl ester, RE) LD。其中, SE是植物固醇酯、真菌固醇酯及动物胆固醇酯(cholesterol ester, CE)的统称。巨噬细胞可形成富含CE的LD并转化为泡沫细胞, 参与动脉粥样硬化进程; 肾上腺皮质细胞亦能生成CE LD^[102]。RE LD则主要存在于HSC中, 由卵磷脂视黄醇酰基转移酶(lecithin retinol acyltransferase, LRAT)催化合成^[103-104]。

现有研究初步揭示了SE/RE LD的生物发生机制及塞厄平蛋白的调控作用:

6.1.1 共性机制

与TG LD类似, SE和RE均可通过其羧基酯基与塞厄平蛋白的羟基残基相互作用, 促进塞厄平蛋白环内脂质富集与成核^[105], 体现了塞厄平蛋白在NL储存中的普适功能。

6.1.2 特异性机制

a. 塞厄平蛋白非依赖性定位: 将Sei1-GFP与核-液泡连接蛋白1(nucleus-vacuole junction protein 1, Nvj1) N端结构域融合后, 在缺乏塞厄平蛋白的酵母中表达, 结果显示新生RE/SE LD大多不与Nvj1-Sei1-GFP共定位, 而TG LD则与之密切相关, 表明RE/SE LD的生物发生可独立于塞厄平蛋白^[106]。

b. 成核能垒差异: CE分子掺入CE聚集体的能垒高于TG, 塞厄平蛋白可通过促进TG聚集间接介导CE的共聚集^[107]。但当TG合成被抑制时, 塞厄平蛋白缺失并不影响CE LD形成, 进一步支持SE/RE LD存在独特成核途径^[107]。

综上, 塞厄平蛋白对SE/RE LD的调控作用有限, 未来需鉴定其特异性关键蛋白质, 这将深化对LD生物发生与NL分子种类关联的理解。

6.2 CE LD调控因子ABCA1/ABCG1与动脉粥样硬化

巨噬细胞通过巨胞饮、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)吞噬及清道夫受体介导的内化作用摄取脂蛋白(如LDL、极低密度脂蛋

白 (very low-density lipoprotein, VLDL))。内化脂蛋白在溶酶体降解释放游离胆固醇 (free cholesterol, FC), FC经ACAT酯化为CE并储存于LD。CE可通过脂解 (lipolysis) 或脂噬 (lipophagy) 动员, 经溶酶体降解为FC^[108]。FC积累激活肝脏X受体/类视黄醇X受体 (liver-X-receptor (LXR)/retinoid X receptor (RXR)) 异二聚体转录因子, 从而上调ATP结合盒转运体A1/G1 (ATP-binding cassette transporter A1/G1, ABCA1/ABCG1), 介导FC转移至载脂蛋白A-I (apolipoprotein A-I, APOA-I) 形成新生高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL), 促进胆固醇外流^[109-110]。

ABCA1/ABCG1基因缺失导致胆固醇稳态失衡, 驱动动脉粥样硬化进展。a. 促炎信号激活: 脂筏中鞘磷脂-FC复合物增多, 增强Toll样受体4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 信号, 激活核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 并促进炎症因子分泌^[111]; b. 炎性小体活化: 过量FC诱导溶酶体胆固醇结晶形成, 激活核苷酸结合结构域富含亮氨酸重复序列和含热蛋白结构域受体3 (nucleotide-binding domain leucine-rich repeat and pyrin domain-containing receptor 3, NLRP3) 炎性小体^[112]; c. 细胞凋亡与斑块不稳定: FC蓄积干扰内质网功能, 诱发巨噬细胞凋亡, 继发性坏死导致斑块失稳^[113]。因此, ABCA1/ABCG1介导的胆固醇外流通过维持脂质稳态与抑制炎症发挥双重抗动脉粥样硬化作用。

6.3 RE LD调控因子LRAT与肝脏疾病

HSC储存人体50%~95%的维生素A, 其中95%以上以RE形式存在 (占HSC胞质LD含量的30%~50%)^[104]。RE合成关键酶LRAT与多种肝病相关。a. 肝癌。LRAT缺失小鼠肿瘤负荷及体积显著减小。机制上, 视黄醇酯化受阻可能增强视黄醛/视黄酸转化通路, 诱导抑癌基因P21表达^[114]。b. 肝纤维化。代谢相关脂肪性肝炎 (metabolic dysfunction associated steatohepatitis, MASH) 模型中, HSC的DGAT1敲低导致LRAT表达升高, 可能通过改善类视黄醇稳态抑制纤维化^[115]。但另一项研究表明, LRAT^{-/-}的小鼠相对于野生型小鼠组织学纤维化程度没有差异^[114]。所以LRAT是否能抑制肝纤维化有待商榷。c. HSC激活。RE LD缺失与LRAT活性下降是HSC活化标志^[104, 116], 但LD减少是活化诱因或结果尚无定论。

7 总结与展望

过去数年, LD生物学领域取得了多项重要进展, 尤其是近年方法学的突破显著深化了对LD动态生物学机制的理解。单细胞测序技术 (特别是单细胞脂质组学与转录组整合分析) 首次在单细胞分辨率揭示了脂肪组织的组织可塑性及LD的异质性。脂肪组织具有显著的可塑性, 即在生理或病理条件下具有改变细胞内LD大小和丰度的能力。研究表明, 同一组织内不同细胞亚群的LD在组成 (如胆固醇酯与TG比例)、代谢酶表达谱及响应外界刺激的动态能力上存在显著差异。这种异质性直接关联细胞的代谢状态与功能分化, 例如在脂肪组织中鉴定出具有高脂解活性与炎症倾向的脂肪细胞亚群, 为代谢疾病的细胞起源提供了新视角^[117]。

在动态追踪层面, 超分辨率显微技术的应用实现了LD超微结构的实时解析。受激发射损耗 (stimulated emission depletion, STED) 显微镜通过突破光学衍射极限 (分辨率可达30~60 nm), 可清晰捕捉LD表面PL单分子层的曲率变化、LD-ER/线粒体膜接触位点的纳米级结构重塑^[75, 118-121]。而光激活定位显微术/随机光学重构显微术 (photoactivation localization microscopy, PALM/stochastic optical reconstruction microscopy, STORM) 则利用单分子定位原理 (分辨率达20 nm), 实现了对LD融合/分裂过程中关键蛋白 (如PLIN家族蛋白、SNAREs) 的空间分布与组装动力学的单分子精度示踪^[122-123]。这些技术证实了LD表面存在动态的膜曲率微域, 且其变化直接调控蛋白质招募与脂质交换效率。

然而, 该领域仍存在若干关键问题亟待解决: a. 塞厄平蛋白、FIT2等经典调控因子的未知相互作用因子及其相互作用机制; b. LD生物发生的新因子的发掘; c. LD特异性膜接触位点的形成与维持机制, 以及介导LD与其他细胞器之间脂质交换的分子基础; d. 蛋白质靶向LD的机制及采取两种靶向途径的生理意义; e. SE LD和RE LD独特的生物发生机制。无疑, 解答这些基础科学问题将显著推动LD生物学领域的发展。通过深入理解LD生物发生的分子机制, 有望更全面地揭示LD的生理功能及其与疾病的关联。

参 考 文 献

- [1] Olzmann J A, Carvalho P. Dynamics and functions of lipid

- droplets. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, **20**(3): 137-155
- [2] Walther T C, Chung J, Farese Jr R V. Lipid droplet biogenesis. *Ann Rev Cell Dev Biol*, 2017, **33**(1): 491-510
- [3] Gao M, Huang X, Song B L, *et al.* The biogenesis of lipid droplets: lipids take center stage. *Prog Lipid Res*, 2019, **75**: 100989
- [4] Zadoorian A, Du X, Yang H. Lipid droplet biogenesis and functions in health and disease. *Nat Rev Endocrinol*, 2023, **19**(8): 443-459
- [5] 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**(1): 9-21.e5
- [6] Vevea J D, Garcia E J, Chan R B, *et al.* Role for lipid droplet biogenesis and microlipophagy in adaptation to lipid imbalance in yeast. *Dev Cell*, 2015, **35**(5): 584-599
- [7] Griffin J D, Bejarano E, Wang X D, *et al.* Integrated action of autophagy and adipose tissue triglyceride lipase ameliorates diet-induced hepatic steatosis in liver-specific PLIN2 knockout mice. *Cells*, 2021, **10**(5): 1016
- [8] Mass-Sanchez P B, Krizanac M, Štancil P, *et al.* Perilipin 5 deletion protects against nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma by modulating lipid metabolism and inflammatory responses. *Cell Death Discov*, 2024, **10**(1): 94
- [9] Yin X, Dong L, Wang X, *et al.* Perilipin 5 regulates hepatic stellate cell activation and high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease. *Anim Models Exp Med*, 2024, **7**(2): 166-178
- [10] Farrell G C, Teoh N, McCuskey R S. Hepatic microcirculation in fatty liver disease. *Anat Rec (Hoboken)*, 2008, **291**(6): 684-692
- [11] Hirooka M, Koizumi Y, Miyake T, *et al.* Nonalcoholic fatty liver disease: portal hypertension due to outflow block in patients without cirrhosis. *Radiology*, 2015, **274**(2): 597-604
- [12] Scorletti E, Carr R M. A new perspective on NAFLD: focusing on lipid droplets. *J Hepatol*, 2022, **76**(4): 934-945
- [13] Park C Y, Kim D, Seo M K, *et al.* Dysregulation of lipid droplet protein expression in adipose tissues and association with metabolic risk factors in adult females with obesity and type 2 diabetes. *J Nutr*, 2023, **153**(3): 691-702
- [14] Sun Z, Gong J, Wu H, *et al.* Perilipin1 promotes unilocular lipid droplet formation through the activation of Fsp27 in adipocytes. *Nat Commun*, 2013, **4**: 1594
- [15] de Almeida M E, Nielsen J, Petersen M H, *et al.* Altered intramuscular network of lipid droplets and mitochondria in type 2 diabetes. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2023, **324**(1): C39-C57
- [16] Fachada V, Rahkila P, Fachada N, *et al.* Enlarged PLIN5-uncoated lipid droplets in inner regions of skeletal muscle type II fibers associate with type 2 diabetes. *Acta Histochem*, 2022, **124**(3): 151869
- [17] Cui L, Mirza A H, Zhang S, *et al.* Lipid droplets and mitochondria are anchored during brown adipocyte differentiation. *Protein Cell*, 2019, **10**(12): 921-926
- [18] Zheng X, Ho Q W C, Chua M, *et al.* Destabilization of β Cell FIT2 by saturated fatty acids alter lipid droplet numbers and contribute to ER stress and diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, **119**(11): e2113074119
- [19] Haney M S, Pálovics R, Munson C N, *et al.* APOE4/4 is linked to damaging lipid droplets in Alzheimer's disease microglia. *Nature*, 2024, **628**(8006): 154-161
- [20] Yang Y, Chen D, Zhu Y, *et al.* Kinsenoside suppresses DGAT1-mediated lipid droplet formation to trigger ferroptosis in triple-negative breast cancer. *Int J Mol Sci*, 2025, **26**(5): 2322
- [21] Lin G, Liu Q, Xie C, *et al.* Upregulated FSP1 by GPD1/1L mediated lipid droplet accumulation enhances ferroptosis resistance and peritoneal metastasis in gastric cancer. *Cell Commun Signal*, 2025, **23**(1): 132
- [22] Minami J K, Morrow D, Bayley N A, *et al.* CDKN2A deletion remodels lipid metabolism to prime glioblastoma for ferroptosis. *Cancer Cell*, 2023, **41**(6): 1048-1060.e9
- [23] Klemm R W, Carvalho P. Lipid droplets big and small: basic mechanisms that make them all. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2024, **40**(1): 143-168
- [24] Mathiowetz A J, Olzmann J A. Lipid droplets and cellular lipid flux. *Nat Cell Biol*, 2024, **26**(3): 331-345
- [25] Klug Y A, Ferreira J V, Carvalho P. A unifying mechanism for seipin-mediated lipid droplet formation. *FEBS Lett*, 2024, **598**(10): 1116-1126
- [26] Sagui C, Grant M. Theory of nucleation and growth during phase separation. *Phys Rev E*, 1999, **59**(4): 4175
- [27] Santinho A, Salo V T, Chorlay A, *et al.* Membrane curvature catalyzes lipid droplet assembly. *Curr Biol*, 2020, **30**(13): 2481-2494.e6
- [28] Zoni V, Khaddaj R, Campomanes P, *et al.* Pre-existing bilayer stresses modulate triglyceride accumulation in the ER versus lipid droplets. *Elife*, 2021, **10**: e62886
- [29] Prasanna X, Salo V T, Li S, *et al.* Seipin traps triacylglycerols to facilitate their nanoscale clustering in the endoplasmic reticulum membrane. *PLoS Biol*, 2021, **19**(1): e3000998
- [30] Chung J, Wu X, Lambert T J, *et al.* LDAF1 and seipin form a lipid droplet assembly complex. *Dev Cell*, 2019, **51**(5): 551-563.e7
- [31] Khandelia H, Duelund L, Pakkanen K I, *et al.* Triglyceride blisters in lipid bilayers: implications for lipid droplet biogenesis and the mobile lipid signal in cancer cell membranes. *PLoS One*, 2010, **5**(9): e12811
- [32] Helfrich W. Elastic properties of lipid bilayers: theory and possible experiments. *Z Naturforsch C*, 1973, **28**(11): 693-703
- [33] Simunovic M, Voth G A, Callan-Jones A, *et al.* When physics takes over: bar proteins and membrane curvature. *Trends Cell Biol*, 2015, **25**(12): 780-792
- [34] Roberts M A, Segura-Roman A, Olzmann J A. Organelle biogenesis: ER shape influences lipid droplet nucleation. *Curr Biol*, 2020, **30**(13): R770-R773
- [35] 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**(1): 2939
- [36] Vamparys L, Gautier R, Vanni S, *et al.* Conical lipids in flat bilayers induce packing defects similar to that induced by positive

- curvature. *Biophys J*, 2013, **104**(3): 585-593
- [37] Zoni V, Khaddaj R, Lukmantara I, *et al.* Seipin accumulates and traps diacylglycerols and triglycerides in its ring-like structure. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, **118**(10): e2017205118
- [38] 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**(6): 915-926.e9
- [39] 李展鑫. 磷脂酰肌醇/磷脂酰丝氨酸对脂滴生成的影响研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2023
- Li Z X. Studies on The Effect of Phosphatidylinositol/Phosphatidylserine on Lipid Droplet Production[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2023
- [40] Cartwright B R, Binns D D, Hilton C L, *et al.* Seipin performs dissectible functions in promoting lipid droplet biogenesis and regulating droplet morphology. *Mol Biol Cell*, 2015, **26**(4): 726-739
- [41] 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**(4): 478-493.e9
- [42] Arlt H, Sui X, Folger B, *et al.* Seipin forms a flexible cage at lipid droplet formation sites. *Nat Struct Mol Biol*, 2022, **29**(3): 194-202
- [43] Yan R, Qian H, Lukmantara I, *et al.* Human SEIPIN binds anionic phospholipids. *Dev Cell*, 2018, **47**(2): 248-256.e4
- [44] Klug Y A, Deme J C, Corey R A, *et al.* Mechanism of lipid droplet formation by the yeast Sei1/Ldb16 Seipin complex. *Nat Commun*, 2021, **12**(1): 5892
- [45] Castro I G, Eisenberg-Bord M, Persiani E, *et al.* Promethin is a conserved seipin partner protein. *Cells*, 2019, **8**(3): E268
- [46] Wang C W, Miao Y H, Chang Y S. Control of lipid droplet size in budding yeast requires the collaboration between Fld1 and Ldb16. *J Cell Sci*, 2014, **127**(pt 6): 1214-1228
- [47] Choudhary V, El Atab O, Mizzon G, *et al.* Seipin and Nem1 establish discrete ER subdomains to initiate yeast lipid droplet biogenesis. *J Cell Biol*, 2020, **219**(7): e201910177
- [48] Gao Q, Binns D D, Kinch L N, *et al.* Pet10p is a yeast perilipin that stabilizes lipid droplets and promotes their assembly. *J Cell Biol*, 2017, **216**(10): 3199-3217
- [49] Harayama T, Riezman H. Understanding the diversity of membrane lipid composition. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, **19**(5): 281-296
- [50] Ben M'barek K, Ajjaji D, Chorlay A, *et al.* ER membrane phospholipids and surface tension control cellular lipid droplet formation. *Dev Cell*, 2017, **41**(6): 591-604.e7
- [51] Ernst R, Ejsing C S, Antonny B. Homeoviscous adaptation and the regulation of membrane lipids. *J Mol Biol*, 2016, **428**(24): 4776-4791
- [52] Chorlay A, Thiam A R. An asymmetry in monolayer tension regulates lipid droplet budding direction. *Biophys J*, 2018, **114**(3): 631-640
- [53] Chorlay A, Monticelli L, Verissimo Ferreira J, *et al.* Membrane asymmetry imposes directionality on lipid droplet emergence from the ER. *Dev Cell*, 2019, **50**(1): 25-42.e7
- [54] Kim S, Chung J, Arlt H, *et al.* Seipin transmembrane segments critically function in triglyceride nucleation and lipid droplet budding from the membrane. *Elife*, 2022, **11**: e75808
- [55] Schneider R, Choudhary V. Seipin collaborates with the ER membrane to control the sites of lipid droplet formation. *Curr Opin Cell Biol*, 2022, **75**: 102070
- [56] Romanauska A, Stankunas E, Schuldiner M, *et al.* Seipin governs phosphatidic acid homeostasis at the inner nuclear membrane. *Nat Commun*, 2024, **15**(1): 10486
- [57] Lukmantara I, Chen F, Mak H Y, *et al.* PI(3)P and DFCP1 regulate the biogenesis of lipid droplets. *Mol Biol Cell*, 2022, **33**(14): ar131
- [58] 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**(52): 20890-20895
- [59] Wang H, Becuwe M, Housden B E, *et al.* Seipin is required for converting nascent to mature lipid droplets. *Elife*, 2016, **5**: e16582
- [60] 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**(49): 19581-19586
- [61] 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**(10): e202006111
- [62] Wang H, Nikain C, Fortounas K I, *et al.* FITM2 deficiency results in ER lipid accumulation, ER stress, and reduced apolipoprotein B lipidation and VLDL triglyceride secretion *in vitro* and in mouse liver. *Mol Metab*, 2024, **90**: 102048
- [63] 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**(5): e201907183
- [64] Ferreira J V, Carvalho P. Pex30-like proteins function as adaptors at distinct ER membrane contact sites. *J Cell Biol*, 2021, **220**(10): e202103176
- [65] Bulankina A V, Thoms S. Functions of vertebrate ferlins. *Cells*, 2020, **9**(3): E534
- [66] Chen H, de Boer R, Lamb D C, *et al.* Artificial ER-mitochondrion tethering restores Erg6 localization and lipid droplet formation in *Hansenula polymorpha* *Apex23* and *Apex29* cells. *Contact (Thousand Oaks)*, 2025, **8**: 25152564251336908
- [67] Xue Y, Wang W, Sheng X, *et al.* Peroxisomal biogenesis factor 11 as a novel target to trigger lipid biosynthesis and salt stress resistance in oleaginous *Tetrademus obliquus*. *Bioresour Technol*, 2025, **421**: 132209
- [68] Wright Z J, Sharp N E, Bartel B. ER nests are specialized ER subdomains in Arabidopsis where peroxisomes and lipid droplets form. *Dev Cell*, 2025, **60**(15): 2061-2080.e4
- [69] Lu X, Gruia-Gray J, Copeland N G, *et al.* The murine perilipin gene: the lipid droplet-associated perilipins derive from tissue-specific, mRNA splice variants and define a gene family of ancient origin. *Mamm Genome*, 2001, **12**(9): 741-749
- [70] Majchrzak M, Stojanović O, Ajjaji D, *et al.* Perilipin membrane

- integration determines lipid droplet heterogeneity in differentiating adipocytes. *Cell Rep*, 2024, **43**(4): 114093
- [71] Čopič A, Antoine-Bally S, Giménez-Andrés M, *et al.* A giant amphipathic helix from a perilipin that is adapted for coating lipid droplets. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 1332
- [72] Khaddaj R, Stribny J, Cottier S, *et al.* Perilipin 3 promotes the formation of membrane domains enriched in diacylglycerol and lipid droplet biogenesis proteins. *Front Cell Dev Biol*, 2023, **11**: 1116491
- [73] Wilfling F, Wang H, Haas J T, *et al.* Triacylglycerol synthesis enzymes mediate lipid droplet growth by relocalizing from the ER to lipid droplets. *Dev Cell*, 2013, **24**(4): 384-399
- [74] Thiam A R, Antonny B, Wang J, *et al.* COPI buds 60-nm lipid droplets from reconstituted water-phospholipid-triacylglyceride interfaces, suggesting a tension clamp function. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, **110**(33): 13244-13249
- [75] Wilfling F, Thiam A R, Olarte M J, *et al.* Arf1/COPI machinery acts directly on lipid droplets and enables their connection to the ER for protein targeting. *Elife*, 2014, **3**: e01607
- [76] Song J, Mizrak A, Lee C W, *et al.* Identification of two pathways mediating protein targeting from ER to lipid droplets. *Nat Cell Biol*, 2022, **24**(9): 1364-1377
- [77] Malis Y, Armoza-Eilat S, Nevo-Yassaf I, *et al.* Rab1b facilitates lipid droplet growth by ER-to-lipid droplet targeting of DGAT2. *Sci Adv*, 2024, **10**(22): eade7753
- [78] Puza S, Caesar S, Poojari C, *et al.* Lipid droplets embedded in a model cell membrane create a phospholipid diffusion barrier. *Small*, 2022, **18**(12): 2106524
- [79] Zhang C, Ye M, Melikov K, *et al.* CLSTN3B promotes lipid droplet maturation and lipid storage in mouse adipocytes. *Nat Commun*, 2024, **15**(1): 9475
- [80] Krahmer N, Guo Y, Wilfling F, *et al.* Phosphatidylcholine synthesis for lipid droplet expansion is mediated by localized activation of CTP: phosphocholine cytidyltransferase. *Cell Metab*, 2011, **14**(4): 504-515
- [81] Leonzino M, Reinisch K M, De Camilli P. Insights into VPS13 properties and function reveal a new mechanism of eukaryotic lipid transport. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2021, **1866**(10): 159003
- [82] 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**(10): 3625-3639
- [83] Chen S, Roberts M A, Chen C Y, *et al.* VPS13A and VPS13C influence lipid droplet abundance. *Contact (Thousand Oaks)*, 2022, **5**: 25152564221125613
- [84] Korfhage J L, Wan N, Elhan H, *et al.* ATG2A-mediated bridge-like lipid transport regulates lipid droplet accumulation. *bioRxiv*, 2023. DOI:10.1101/2023.08.14.553257
- [85] Guyard V, Monteiro-Cardoso V F, Omrane M, *et al.* ORP5 and ORP8 orchestrate lipid droplet biogenesis and maintenance at ER-mitochondria contact sites. *J Cell Biol*, 2022, **221**(9): e202112107
- [86] 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**(1): e201905162
- [87] Zhou T, Du Y, Hu X, *et al.* Sec14L6 is a PS and PI4P transporter that promotes lipid droplet formation. *bioRxiv*, 2024. DOI: 10.1101/2024.10.20.619318
- [88] Gong J, Sun Z, Wu L, *et al.* Fsp27 promotes lipid droplet growth by lipid exchange and transfer at lipid droplet contact sites. *J Cell Biol*, 2011, **195**(6): 953-963
- [89] Lyu X, Wang J, Wang J, *et al.* A gel-like condensation of Cidec generates lipid-permeable plates for lipid droplet fusion. *Dev Cell*, 2021, **56**(18): 2592-2606.e7
- [90] Fei W, Shui G, Zhang Y, *et al.* A role for phosphatidic acid in the formation of “supersized” lipid droplets. *PLoS Genet*, 2011, **7**(7): e1002201
- [91] 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**(3): 473-482
- [92] Li Q, Zhou X, Zhang X, *et al.* Nuclear receptor signaling regulates compartmentalized phosphatidylcholine remodeling to facilitate thermosensitive lipid droplet fusion. *Nat Commun*, 2025, **16**(1): 3955
- [93] Bersuker K, Peterson C W H, To M, *et al.* A proximity labeling strategy provides insights into the composition and dynamics of lipid droplet proteomes. *Dev Cell*, 2018, **44**(1): 97-112.e7
- [94] Olarte M J, Swanson J M J, Walther T C, *et al.* The CYTOLD and ERTOLD pathways for lipid droplet-protein targeting. *Trends Biochem Sci*, 2022, **47**(1): 39-51
- [95] Olarte M J, Kim S, Sharp M E, *et al.* Determinants of endoplasmic reticulum-to-lipid droplet protein targeting. *Dev Cell*, 2020, **54**(4): 471-487.e7
- [96] Schrul B, Kopito R R. Peroxin-dependent targeting of a lipid-droplet-destined membrane protein to ER subdomains. *Nat Cell Biol*, 2016, **18**(7): 740-751
- [97] Olzmann J A, Richter C M, Kopito R R. Spatial regulation of UBXD8 and p97/VCP controls ATGL-mediated lipid droplet turnover. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, **110**(4): 1345-1350
- [98] Caillon L, Nieto V, Gehan P, *et al.* Triacylglycerols sequester monotopic membrane proteins to lipid droplets. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 3944
- [99] Ruggiano A, Mora G, Buxó L, *et al.* Spatial control of lipid droplet proteins by the ERAD ubiquitin ligase Doa10. *EMBO J*, 2016, **35**(15): 1644-1655
- [100] Prévost C, Sharp M E, Kory N, *et al.* Mechanism and determinants of amphipathic helix-containing protein targeting to lipid droplets. *Dev Cell*, 2018, **44**(1): 73-86.e4
- [101] Giménez-Andrés M, Emeršič T, Antoine-Bally S, *et al.* Exceptional stability of a perilipin on lipid droplets depends on its polar residues, suggesting multimeric assembly. *Elife*, 2021, **10**: e61401
- [102] Shen W J, Cortez Y, Singh A, *et al.* Mice deficient in ER protein seipin have reduced adrenal cholesteryl ester lipid droplet formation and utilization. *J Lipid Res*, 2022, **63**(12): 100309

- [103] Blaner W S, O'Byrne S M, Wongsiriroj N, *et al.* Hepatic stellate cell lipid droplets: a specialized lipid droplet for retinoid storage. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2009, **1791**(6): 467-473
- [104] Trivedi P, Wang S, Friedman S L. The power of plasticity-metabolic regulation of hepatic stellate cells. *Cell Metab*, 2021, **33**(2): 242-257
- [105] Renne M F, Corey R A, Ferreira J V, *et al.* Seipin concentrates distinct neutral lipids *via* interactions with their acyl chain carboxyl esters. *J Cell Biol*, 2022, **221**(9): e202112068
- [106] Molenaar M R, Yadav K K, Toulmay A, *et al.* Retinyl esters form lipid droplets independently of triacylglycerol and seipin. *J Cell Biol*, 2021, **220**(10): e202011071
- [107] Dumesnil C, Vanharanta L, Prasanna X, *et al.* Cholesterol esters form supercooled lipid droplets whose nucleation is facilitated by triacylglycerols. *Nat Commun*, 2023, **14**(1): 915
- [108] Ouimet M, Franklin V, Mak E, *et al.* Autophagy regulates cholesterol efflux from macrophage foam cells *via* lysosomal acid lipase. *Cell Metab*, 2011, **13**(6): 655-667
- [109] Wang J, Xiao Q, Wang L, *et al.* Role of *ABCA1* in cardiovascular disease. *J Pers Med*, 2022, **12**(6): 1010
- [110] Moore K J, Tabas I. Macrophages in the pathogenesis of atherosclerosis. *Cell*, 2011, **145**(3): 341-355
- [111] Yvan-Charvet L, Welch C, Pagler T A, *et al.* Increased inflammatory gene expression in ABC transporter-deficient macrophages: free cholesterol accumulation, increased signaling *via* toll-like receptors, and neutrophil infiltration of atherosclerotic lesions. *Circulation*, 2008, **118**(18): 1837-1847
- [112] Feng B, Yao P M, Li Y, *et al.* The endoplasmic reticulum is the site of cholesterol-induced cytotoxicity in macrophages. *Nat Cell Biol*, 2003, **5**(9): 781-792
- [113] Tabas I. Consequences and therapeutic implications of macrophage apoptosis in atherosclerosis: the importance of lesion stage and phagocytic efficiency. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, **25**(11): 2255-2264
- [114] Kluwe J, Wongsiriroj N, Troeger J S, *et al.* Absence of hepatic stellate cell retinoid lipid droplets does not enhance hepatic fibrosis but decreases hepatic carcinogenesis. *Gut*, 2011, **60**(9): 1260-1268
- [115] Yamaguchi K, Yang L, McCall S, *et al.* Diacylglycerol acyltransferase 1 anti-sense oligonucleotides reduce hepatic fibrosis in mice with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 2008, **47**(2): 625-635
- [116] Haaker M W, Goossens V, Hoogland N A N, *et al.* Early activation of hepatic stellate cells induces rapid initiation of retinyl ester breakdown while maintaining lecithin: retinol acyltransferase (LRAT) activity. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2024, **1869**(7): 159540
- [117] Maniyadath B, Zhang Q, Gupta R K, *et al.* Adipose tissue at single-cell resolution. *Cell Metab*, 2023, **35**(3): 386-413
- [118] Cao S, Ding Q, Sun C, *et al.* Spatiotemporal super-resolution imaging of lipid metabolism dynamics in physiological/pathological conditions. *Angew Chem Int Ed*, 2025, **64**(29): e202502159
- [119] Zhou R, Wang C, Liang X, *et al.* A new organic molecular probe as a powerful tool for fluorescence imaging and biological study of lipid droplets. *Theranostics*, 2023, **13**(1): 95-105
- [120] Liu G, Peng G, Dai J, *et al.* STED nanoscopy imaging of cellular lipid droplets employing a superior organic fluorescent probe. *Anal Chem*, 2021, **93**(44): 14784-14791
- [121] 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**(11): 1423-1432
- [122] Daemen S, van Zandvoort M A M J, Parekh S H, *et al.* Microscopy tools for the investigation of intracellular lipid storage and dynamics. *Mol Metab*, 2016, **5**(3): 153-163
- [123] Adhikari S, Moscatelli J, Puchner E M. Quantitative live-cell PALM reveals nanoscopic Faa4 redistributions and dynamics on lipid droplets during metabolic transitions of yeast. *Mol Biol Cell*, 2021, **32**(17): 1565-1578

Lipid Droplet Biogenesis at the Endoplasmic Reticulum: Orchestrating Nucleation, Membrane Budding, and Expansion*

YU Yue^{1,2)}, JI Wei-Ke^{2,3,4)}, XIONG Juan^{1)**}

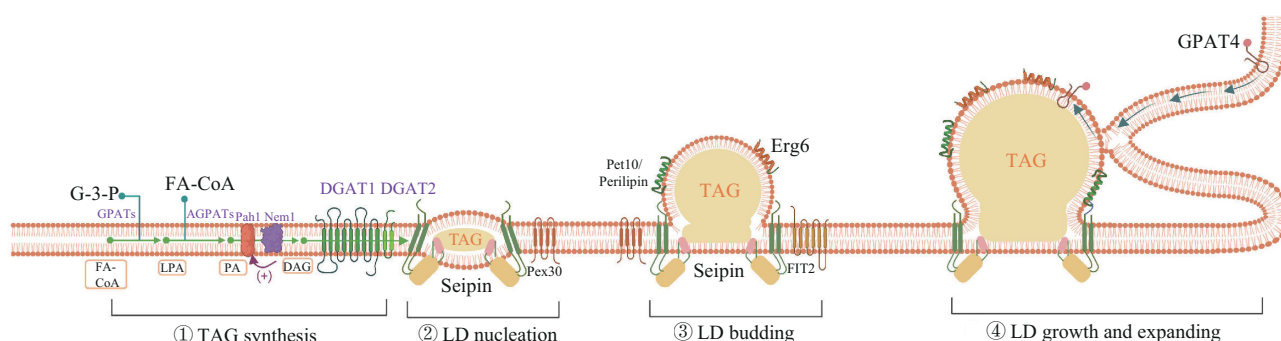
⁽¹⁾Clinical Research Center for Geriatric Anesthesia, Hubei Key Laboratory of Geriatric Anesthesia and Perioperative Brain Health, Department of Anesthesiology and Pain Medicine, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China;

⁽²⁾State Key Laboratory for Diagnosis and Treatment of Severe Zoonotic Infectious Diseases, Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medicine, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China;

⁽³⁾Shenzhen Bay Laboratory, Shenzhen 518132, China;

⁽⁴⁾Cell Architecture Research Center, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

Graphical abstract



Abstract Lipid droplets (LDs) are dynamic organelles that are ubiquitous across most organisms, including animals, plants, protists, and microorganisms. Their core consists of neutral lipids, surrounded by a phospholipid monolayer adorned with a specific set of proteins. As critical intracellular hubs of metabolic regulation, lipid droplets play essential roles in maintaining physiological homeostasis and contributing to the progression of various pathological processes. They store neutral lipids for energy production during periods of starvation or for membrane biosynthesis, and they sequester fatty acids to mitigate lipotoxicity. Clinically, dysregulation of lipid droplet function is associated with a wide range of diseases, including metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD), obesity, type 2 diabetes mellitus (T2DM), neurodegenerative disorders, and cancer. Research into the biological functions of lipid droplets—as dynamic organelles and their links to multiple diseases—has emerged as a cutting-edge focus in cell biology. In recent years, significant advances have been made in understanding lipid droplet biogenesis. Researchers have developed a more refined framework that elucidates

* This work was supported by grants from Key Project of Tongji Hospital Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology (2024A29), The National Natural Science Foundation of China(81901166, 32371343, 92354304) and Shenzhen Bay Scholars Program.

** Corresponding author.

Tel: 86-18672947792, E-mail: juanxiong1207@163.com

Received: April 27, 2025 Accepted: June 27, 2025

how LDs are assembled in the endoplasmic reticulum (ER). Triacylglycerols and sterol esters are synthesized between the inner and outer leaflets of the ER bilayer, and when they exceed the critical nucleation concentration (CNC), they coalesce to form neutral lipid lenses. These then bud from the ER under the coordinated action of key proteins such as Seipin, fat storage-inducing transmembrane protein 2 (FIT2), and the peroxisomal membrane protein Pex30. This budding process is driven by changes in membrane curvature and surface tension, induced by the asymmetric distribution of phospholipids. Nascent lipid droplets recruit lipid-synthesizing enzymes *via* ER-LD bridging structures, enabling localized lipid production and surface expansion, ultimately resulting in the formation of mature LDs. Biochemical and biophysical approaches have revealed important features of this process, underscoring the critical roles of ER membrane biophysical properties and specific phospholipids. Structural biology and proteomic studies have identified key regulators—particularly Seipin and FIT2—as central players in LD biogenesis. This review systematically summarizes recent advances in the molecular mechanisms of LD biogenesis. It delves into the processes of LD nucleation, membrane budding, and expansion in eukaryotic cells, with a special focus on how core factors such as Seipin and FIT2 dynamically regulate LD morphology. In addition, it examines the mechanisms and pathways by which class I and class II proteins are targeted to LDs, compares LD biogenesis involving different neutral lipid cores, and discusses the disease relevance of specific regulatory proteins. Finally, the review outlines critical unresolved questions in the field of LD biogenesis, offering clear directions for future research and providing a comprehensive framework for deepening our understanding of LD formation and its implications for disease intervention.

Key words lipid droplet, biogenesis, phospholipids, Seipin protein, fat storage-inducing transmembrane protein 2

DOI: 10.3724/j.pibb.2025.0188

CSTR: 32369.14.pibb.20250188