Piper 生物化学与生物物理进展 Progress in Biochemistry and Biophysics XXXX,XX(XX):1~16

www.pibb.ac.cn



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:首先,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: 10.16476/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可以通过螯合FFA,防止 脂毒性^[34]。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 螯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)和深圳湾学者资助项目。

^{**} 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, CIDEA 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¹¹⁷,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 storageinducing 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 Seipin 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^[30,4041]。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。

A B



Fig 1 Seipin structure

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: 70XP)的侧视图和俯视图。中心螺旋 αl-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 dropletassembly 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

•5•

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(Dga1/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 perilipin 同源蛋白 Pet10p 通过稳定 Dga1 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 LDAF1-Seipin complex 图2 脂滴组装因子1-塞厄平蛋白复合物

LDAF1-Seipin 复合物可促进 TAG 的聚集和成核。随着该过程的进行,LDAF1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。LDAF1: 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 积小于酰基链,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):头基体积大于酰基链,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 率降低出芽能全,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(cholinephosphate cytidylyltransferase 1, PCT1)和CTP: 磷酸胆碱胞苷酰转移酶(CTP: phosphocholine cytidylyltransferase, CCT1)双敲除细胞中,胞质 例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LDAF1, perilipin)。

目前对该过程的系统认知仍存在空白。关键未

解问题包括: 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、perilipin)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)-DFCP1 轴调控:在塞厄平蛋白缺失细胞中,PI3P异常累 积,通过抑制 FYVE 结构域蛋白 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 expressionenhancing proteins, REEP5) 和网状蛋白4 (reticulon, RTN4))以及塞厄平蛋白相互作用, 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? c. 塞厄平蛋白 是否通过靶向FIT2直接对出芽位点的膜进行塑形, 促进LD出芽?

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: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 Perilipin家族蛋白的表面张力调控

脂滴包被蛋白(如哺乳动物perilipins,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 中性脂质透镜体形成后,需要募集Pet10p(一种酵 母perilipin)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,perilipin3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

初始脂滴(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成熟LD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 3β (calsyntenin 3β, 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 一步扩展了我们对 LTP 在 LD 发生中的作用的 认识。

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]。

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。

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。

II类蛋白的靶向机制: II类蛋白(如CCT-α、 perilipin)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 the ER to the 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-3-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:

共性机制:与TGLD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。

特异性机制: a. Seipin 非依赖性定位:将 Seil-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-Seil-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 Seipin^[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-Xreceptor (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κB(nuclear factor -κB, NF-κB)并促进炎性因子分泌^[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 domaincontaining 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/ optical reconstruction microscopy, stochastic 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

- 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 Bol, 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 dietinduced hepatic steatosis in liver-specific PLIN2 knockout mice. Cells, 2021, 10(5): 1016
- [8] Mass-Sanchez P B, Krizanac M, Štancl 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. The Anatomical Record: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology, 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 DGAT1mediated lipid droplet formation to trigger ferroptosis in triplenegative 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 GA, 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, Veríssimo 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] Schneiter 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 DA, 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 acylcoenzyme 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 Δpex23* and Δpex29 cells. Contact: Thousand Oaks, 2025, 8: 25152564251336908

·12·

- [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 Tetradesmus obliquus. Bioresour Technol, 2025, 421: 132209
- [68] Wright Z J, Tharp N E, Bartel B. ER nests are specialized ER subdomains in Arabidopsis where peroxisomes and lipid droplets form. Dev Cell, 2025. DOI: 10.1016/j.devcel.2025.03.005
- [69] Lu X, Gruia-Gray J, Copeland N G, et al. The murine perilipin gene: the lipid droplet-associated perilipins derive from tissuespecific, 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 cytidylyltransferase. 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 BBA Mol Cell Biol Lipds, 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 ERmitochondria 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 lipiddroplet-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
- 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 BBA Mol Cell Biol Lipds, 2009, **1791**(6): 467-473
- [104] Trivedi P, Wang S, Friedman S L. The power of plasticitymetabolic 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 acyltranferase 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 BBA Mol Cell Biol Lipds, 2024, 1869(7): 159540
- [117] Maniyadath B, Zhang Q, Gupta R K, et al. Adipose tissue at singlecell 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: 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 Lipds, 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 ER: 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)



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 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: 10.16476/j.pibb.2025.0188 **CSTR:** 32369.14.pibb.20250188

- ** Corresponding author.
- Tel:18672947792, E-mail: juanxiong1207@13.com
- Received: April 27, 2025 Accepted: June 27, 2025

^{*} 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.