

纤毛膜脂与纤毛病

黄振州¹ 周军^{1,2} 刘佩伟^{1*}

(¹山东师范大学生命科学学院, 济南 250357; ²南开大学生命科学学院, 天津 300071)

摘要 纤毛是一类突出于细胞表面的主要由微管组成的有膜细胞器。纤毛由纤毛膜、基质、过渡区和轴丝组成, 在细胞运动、环境信号感知和多细胞生物发育中发挥着重要作用。纤毛膜位于纤毛的最外层, 是纤毛接触细胞外信号的第一场所。纤毛膜与细胞质膜相连却具有独特的脂质构成, 其中, 磷脂酰肌醇、神经酰胺和脂质筏结构等特殊脂类在纤毛形态维持和生理功能中发挥重要作用, 主要参与纤毛中关键信号蛋白的正确定位及纤毛正常摆动。纤毛膜脂质组成发生异常是引发纤毛病的诱因之一, 在巴德毕德氏综合征、朱伯特综合征、眼脑肾综合征中纤毛脂类和脂蛋白定位通常发生改变。该综述汇总了纤毛膜脂质成分的最新研究结果, 探讨了脂质成分在纤毛中的功能, 并介绍了脂类成分异常与纤毛病发生的联系, 以期解析纤毛病的分子机制提供思路。

关键词 纤毛; 纤毛膜; 磷脂; 胆固醇; 脂代谢; 纤毛病

Ciliary Membrane Lipid Composition and Ciliopathy

HUANG Zhenzhou¹, ZHOU Jun^{1,2}, LIU Peiwei^{1*}

(¹College of Life Sciences, Shandong Normal University, Jinan 250357, China;

²College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract Cilia are structures protruding from the cell surface, consisting of the ciliary membrane, matrix, transition zone and axoneme, which play important roles in cell movement, environmental signal perception and organ development. The ciliary membrane envelops the cilium and is one of the most important structures of the cilium and is the primary site where the cilium contacts extracellular signals. The ciliary membrane has a unique composition of lipids, including phosphatidylinositol, ceramides and lipid raft structures. The ciliary lipids have all been shown to play important roles in the maintenance of ciliary morphology and physiological function. The lipid structure ensures the correct localization of key signaling proteins in the cilium and guarantees the bending of cilia during beating. Abnormalities in the lipid composition of the ciliary membrane causes ciliopathy. Undermined lipid-lipoprotein composition of cilia has been demonstrated in Bardet-Biedl syndrome, Joubert syndrome, and Lowe syndrome. This review summarized the latest findings on the lipid composition of ciliary membranes, discussed the function of lipid composition in cilia, and underpinned the relationship between abnormal lipid composition and ciliopathy, with the aim to provide ideas for the treatment of ciliopathy.

Keywords cilia; ciliary membrane; phospholipids; cholesterol; lipid metabolism; ciliopathy

收稿日期: 2024-09-01 接受日期: 2024-11-14

国家自然科学基金面上项目(批准号: 32270808)、山东省泰山青年专家项目(批准号: TSQNZ 20231208)和山东省海外优秀青年基金(批准号: 2024HWYQ-052)资助的课题

*通信作者。E-mail: liupw@sdu.edu.cn

Received: September 1, 2024

Accepted: November 14, 2024

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.32270808), the Taishan Scholar Program Special Funding (Grant No.TSQNZ 20231208), and the Science Foundation for the Excellent Youth Scholars of Shandong Province (Grant No.2024HWYQ-052)

*Corresponding author. E-mail: liupw@sdu.edu.cn

纤毛是一类突出于细胞表面,主要由微管组成的有膜细胞器。纤毛由基体、过渡区、轴丝和纤毛膜组成。纤毛基体由子母中心粒的母中心粒发育而来,由9组三联体微管组成。基体的上方是纤毛过渡区,作为控制纤毛蛋白进出纤毛的扩散屏障,对纤毛组装至关重要。根据纤毛的结构和功能不同,纤毛可分为两大类:动纤毛和初级纤毛。动纤毛的轴丝由9对双联体微管和2根中央微管构成,形成“9+2”型纤毛结构,动纤毛在每个双联体微管上额外存在动力臂、辐条蛋白和连接蛋白,是动纤毛摆动的分子基础^[1]。动纤毛一般存在于呼吸道上皮细胞、脑室室管膜上皮细胞、输卵管上皮细胞以及精子中,在细胞运动、推动表面液体流动以及个体生长发育等方面发挥重要作用。初级纤毛的中央微管不具有动力臂、辐条蛋白和连接蛋白等附属结构,本身通常由9对双联体微管构成“9+0”型纤毛结构。初级纤毛存在于全身近90%的细胞上,例如间充质细胞、嗅觉上皮细胞、视网膜上的视锥视杆细胞等,主要行使感知功能。纤毛结构异常或功能障碍可导致一系列具有典型临床表型的罕见遗传性疾病,称为纤毛病。纤毛病通常具有共同特征,包括视网膜退行性病变、多囊肾脏或肝脏、多指畸形、肥胖、颌面部发育异常、小脑发育异常和认知障碍^[2]。

纤毛的最外部由磷脂双分子层包被,称为纤毛膜。纤毛膜与质膜相接,含有独特的脂质和脂蛋白^[3],这些蛋白赋予纤毛感受细胞外环境信号的能力,实现信号由胞外向胞内的传递过程。同时,纤毛膜中脂质成分决定纤毛膜的机械强度,对于纤毛摆动过程中的膜弯曲程度至关重要。冷冻电子显微镜技术的发展使得对纤毛内部超微结构的解析取得了显著进展,但纤毛膜的脂质组成及动态调控作用仍不清晰。近年来研究表明,纤毛膜的脂质组成是影响纤毛形态、维持纤毛生理功能的关键因素。纤毛膜的主要成分是磷脂,包括磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸和磷脂酰肌醇,以及近些年发现的富含胆固醇和鞘脂的脂质筏^[4]。纤毛膜上的脂类组成具有特异性并且是一个高度动态的结构。这些脂质不仅独立参与信号转导功能,还通过与众多膜蛋白的相互作用一起调节多种细胞信号转导,参与增殖、分化和凋亡等重要细胞过程^[5-6]。纤毛产生独特的信号转导环境,在相对较小的隔室内严格控制蛋白质、脂质和第二信使浓度,从而实现生物信息的接

收、传输和整合,纤毛信号通路的缺陷会导致包括代谢综合征、先天缺陷和多囊肾病在内的一系列“纤毛病”^[7]。

1 纤毛膜脂

纤毛维持结构和功能的稳定性不仅需要大量蛋白的参与,还需要众多脂质成分的参与,两者共同构成了纤毛的复杂网络。纤毛在人体内的多个系统中发挥着重要作用,视网膜光感受器细胞是一类可将光信号转化为神经反应的感觉神经元,此过程发生在视锥细胞及视杆细胞的外节(outer segment, OS), OS是一种特殊的感觉纤毛,存在相对较少的胆固醇(约占总脂质的10mol%),具有异常高水平的长链多不饱和脂肪酸,以22:6 ω 3(也称二十二碳六烯酸)为主^[8]。非综合征性纤毛疾病眼部病变几乎都与OS缺陷相关,如视网膜色素变性、Leber先天性黑矇等^[9]。许多基因编码的蛋白,如USH2A等不仅在视网膜中表达,且在耳蜗、前庭的纤毛结构中高度表达,故此类基因突变后,不仅引起光感受器细胞功能障碍,导致视力下降,同时还会影响耳蜗内的纤毛功能改变,引起听觉障碍^[10]。此外,位于气管、大脑中的纤毛可以通过摆动推动自身或周围液体的流动。

脂质在纤毛中扮演着关键角色,它们参与构成纤毛膜的基本结构,并调节纤毛的信号转导和细胞内环境的稳态。

1.1 磷脂

磷脂包含甘油磷脂和鞘磷脂。甘油磷脂主要包含磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC)、磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine, PE)、磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)和磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PI)(表1)。在细胞膜中,PC约占总磷脂的40%~50%,PE占20%~30%,PS占5%~10%,PI占1%~5%。然而纤毛膜上各类磷脂的具体比例未完全明确。

1.1.1 磷脂酰胆碱 PC是一种两亲分子,是细胞质膜的主要成分之一,由于胆碱头部和脂肪酸尾部链的空间排列,使PC分子结构呈现圆柱状^[22]。PC主要分布于脂质双层的外侧,具有两个脂肪酸链,这些链通过疏水相互作用与膜的疏水核心结合,有助于维持细胞膜的双层结构,并且脂肪酸链长度和饱和度可以影响质膜的流动性,从而调节膜蛋白的活性和膜的通透性^[23]。PC在纤毛膜中参与脂质筏形成。

表1 纤毛膜脂质
Table 1 Ciliary membrane lipids

脂质名称 Lipid name	纤毛膜内外叶上位置 Inner and outer leaflet of ciliary membrane	脂质类型 Lipid type	纤毛病 Ciliopathy	参考文献 References
Phospholipids				
PC	Outer leaflet of bilayer	Structural lipid	Respiratory system diseases	[11]
PE	Inner and outer leaflets of bilayer	Structural and functional lipid	Olfactory dysfunction	[12]
PS	Inner leaflet of bilayer	Structural and functional lipid	Early retinal degeneration	[13-14]
PI	Inner and outer leaflets of bilayer	Structural and functional lipid	Joubert syndrome, MORM syndrome	[15]
Sphingolipids	Outer leaflet of bilayer	Structural and functional lipid	Polycystic kidney disease, hereditary sensory neuropathy	[16-17]
Cholesterol	Embedded within the bilayer	Structural and functional lipid	Zellweger syndrome, polycystic kidney disease	[18-19]
Lipid raft	Lipid raft (membrane microdomain)	Structural and functional lipid	Obesity, diabetes, melanoma	[20-21]

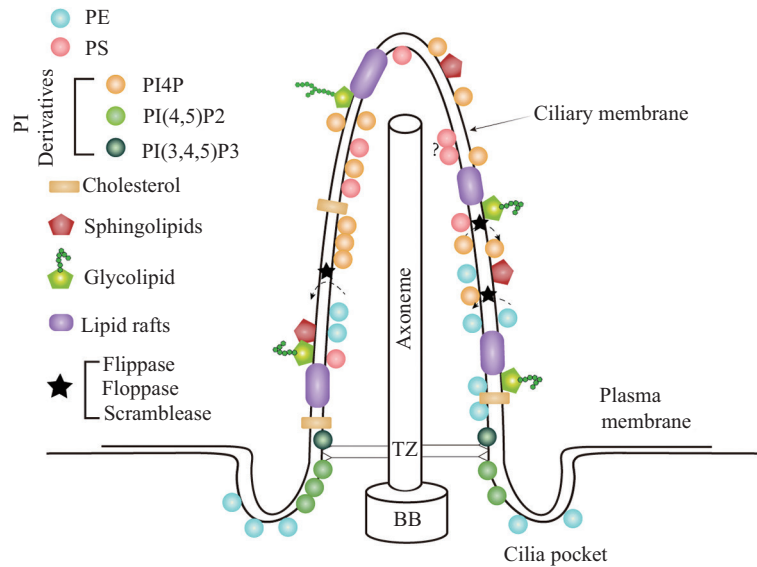
PC可以与胆固醇相互作用,一方面这有助于稳定膜结构,另一方面对G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCRs)的功能有调节作用,如视觉信号转导中的视紫红质(Rhodopsin)。在分子活性上,Rhodopsin受到磷脂酰胆碱和胆固醇的共同调节^[23]。磷脂酰胆碱的甘油骨架上第一个饱和碳原子(sn-1)以及第二个多不饱和碳原子(sn-2)(如花生四烯酸)对于维持Rhodopsin的活性形式(meta II)至关重要。胆固醇与sn-1相互作用减少了膜的流动性,从而调节Rhodopsin从非活性形式(meta I)到meta II的转变,meta I到meta II的转变涉及到Rhodopsin分子体积的增加,这需要脂质双层具有一定的流动性来容纳这种构象变化。PC上的sn-2酰基链的不饱和度可以增加脂质分子之间的“宽容指数”(衡量脂质双层容纳扩展的指标),同时导致膜的相变温度降低,从而在生理温度下维持膜的流体性,有利于Rhodopsin的活化^[24]。

1.1.2 磷脂酰乙醇胺 PE主要存在于生物膜的内层,在维持膜的流动性、稳定性和细胞信号转导中起重要作用。PE具有独特的锥形结构,有助于维持纤毛膜的曲率。研究发现,PE在初级纤毛基部富集,可能参与纤毛口袋的形成(图1)^[25]。除了维持形态学特征外,研究证明其正确分布对于嗅觉受体的功能至关重要。纤毛是嗅觉神经元的关键结构,嗅觉信号的转导涉及纤毛膜上的多种G蛋白和其他信号分子协同作用。嗅觉神经元的纤毛位于树突末端,负责捕捉和传递气味分子。纤毛内含有大量的嗅觉受体,这些受体与气味分子结合后,会引发神经信号

的传递,从而能够分辨和识别不同的气味。对果蝇嗅觉纤毛的研究表明,PE在纤毛中的分布和功能与嗅觉受体的表达和敏感性密切相关,果蝇编码一种P4型ATP酶,称为dATP8B蛋白,这种酶能够将PE从膜的一侧转移到另一侧,dATP8B蛋白在嗅觉神经元的纤毛中高度富集,dATP8B的缺失会影响果蝇的嗅觉,表明PE的分布对于嗅觉细胞纤毛发挥作用至关重要^[26]。因此,我们推测PE在纤毛中不仅参与膜的流动性调节,也参与信号转导蛋白定位等多种生物学过程^[12,26]。

1.1.3 磷脂酰丝氨酸 PS是一种带负电荷的甘油磷脂,主要存在于质膜和晚期内体膜中,PS在这些膜区域负责介导细胞凋亡^[27]。PS识别蛋白通过识别PS头部的结构域来识别PS,或通过带负电荷的膜进行静电相互作用来识别PS。在细胞内,PS参与调控的蛋白包括激酶、鸟嘌呤核苷酸酶(guanosine triphosphatase, GTPase)和促融合蛋白等^[28]。在纤毛膜上,PS的功能和定位出现问题会严重影响纤毛参与的AKT、Hh等信号通路^[29]。以人类细胞为例,纤毛中生长停滞特异性蛋白6(growth arrest-specific 6, GAS6)的谷氨酸富集结构域与PS之间的相互作用对于人血管内皮细胞内AKT信号转导是必需的,GAS6能够促进AKT的磷酸化,进而调节血管内皮功能^[30]。

1.1.4 磷脂肌醇 PI由一个肌醇环和两条脂肪酸链组成,并通过一个甘油骨架连接在一起。PI可以在肌醇环的3、4或5位羟基上被脂质激酶磷酸化,产生各种单磷酸磷脂酰肌醇[PI3P、磷脂酰肌醇4磷酸(phosphatidylinositol 4 phosphate, PI4P)和PI5P]、二



纤毛膜脂质分布示意图。图中展示了纤毛的基本结构：基体(BB)、轴丝(axoneme)、纤毛袋(cilia pocket)、过渡区(TZ)以及与细胞质膜(plasma membrane)相连的纤毛膜(ciliary membrane)，并显示了纤毛膜中不同脂质分子的分布，包括磷脂酰乙醇胺(PE)、磷脂酰丝氨酸(PS)、磷脂酰肌醇(PI)衍生物[PI4P、PI(4,5)P2、PI(3,4,5)P3]、鞘脂(sphingolipids)、胆固醇(cholesterol)和脂质筏(lipid raft)。此外，磷脂翻转酶(flippase)、外翻酶(floppase)和翻转酶(scramblase)负责脂质的翻转。

Schematic diagram of ciliary membrane lipid distribution. The figure illustrates the basic structure of the cilium: BB (basal body), axoneme, ciliary pocket, TZ (transition zone), and ciliary membrane connected to the plasma membrane. It highlights the distribution of distinct lipid molecules within the ciliary membrane, including PE (phosphatidylethanolamine), PS (phosphatidylserine), PI (phosphatidylinositol) derivatives [PI4P, PI(4,5)P2, PI(3,4,5)P3], sphingolipids, cholesterol, and lipid rafts. Additionally, lipid transporters—flippases, floppases, and scramblases—mediate lipid flipping across the membrane.

图1 脂质成分在纤毛膜上的分布

Fig.1 Distribution of lipid components across the ciliary membrane

磷酸磷脂酰肌醇 [PI(3,4)P2、PI(3,5)P2、磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸 (phosphatidylinositol 4,5-diphosphate, PI(4,5)P2)] 和三磷酸磷脂酰肌醇 [磷脂酰肌醇 3,4,5-三磷酸 (phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate, PI(3,4,5)P3)], 又统称为磷脂酰肌醇^[31]。

PI4P是已被充分研究的磷脂酰肌醇之一。与在高尔基体膜中PI4P富集机制不同，PI4P在纤毛膜中的富集由关键的磷酸酶肌醇多磷酸-5-磷酸酶e(inositol polyphosphate-5-phosphatase E, INPP5e)维持。INPP5e可将PI(4,5)P2转化为纤毛中的PI4P。PI4P是纤毛正常功能所必需的，研究发现，PI4P通过与SMO蛋白C-端的精氨酸基团直接相互作用，促进SMO活化及其确保SMO在纤毛中的定位。缺乏INPP5e会导致纤毛的PI4P被PI(4,5)P2取代，进而影响纤毛信号通路^[32]。

PI(4,5)P2是质膜上最丰富的磷脂，是磷脂酶C和磷酸肌醇 3激酶 (phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K) 的共同底物^[33]。但在纤毛膜上，PI(4,5)P2的分布主要局限于纤毛的近端和基部(图1)，这种分布主要由INPP5e参与调控，对物质向纤毛内的运输具有重要意义^[34]。

纤毛基部的PI(4,5)P2对于吸引纤毛货物运输载体蛋白TULP3具有十分重要的作用。TULP3作为TUBBY家族成员，通过其C末端的TUBBY结构域与PI(4,5)P2结合，这一结合增强了TULP3与纤毛膜的亲和力并负责运送了膜蛋白货物到纤毛内。具体过程是：在纤毛基部TULP3识别磷酸肌醇PI(4,5)P2，从而带着货物蛋白一起富集到纤毛基部的口袋处，同时，TULP3通过一个柔性结构域插入IFT-A复合体，继而同IFT蛋白复合体一起进入纤毛，并把货物带入纤毛，完成货物向纤毛内的运输^[35]。如果PI(4,5)P2的分布出现异常，不局限在纤毛基部却出现在整根纤毛膜上，则会导致TULP3介导的货物运输出现异常。具体表现为货物进入纤毛后，由于纤毛内也有PI(4,5)P2的存在，货物蛋白/TULP3仍然与PI(4,5)P2发生结合而无法解离，进而产生货物大量滞留。例如将GPR161过量滞留在纤毛中。由于GPR161负向调控Hh信号通路，导致信号通路活性减弱，因此，纤毛上的PI(4,5)P2的异常分布将破坏纤毛的信号转导^[36-37]。

PI(3,4,5)P3由PI3K以PI(4,5)P2为底物产生。PI(3,4,5)P3和PI(4,5)P2在过渡区的不同区域定位，超

分辨显微镜下PI(3,4,5)P3和PI(4,5)P2的定位呈现围绕基体的环状分布,表明其均匀分布于纤毛基部。与PI(4,5)P2相比,PI(3,4,5)P3分布在过渡区的更远端(图1)^[38]。免疫荧光表明PI(4,5)P2和PI(3,4,5)P3在*INPP5e*基因敲除的小鼠胚胎成纤维细胞(mouse embryonic fibroblast, MEF)的纤毛过渡区异常积聚,积累带来的影响是Hh信号激活后,Hh通路的两个重要的信号传递蛋白SMO和Gli在PI(4,5)P2和PI(3,4,5)P3过度积累的纤毛中的含量减少,影响Hh信号通路^[39]。在机制上,SMO和Gli减少也可能与GPR161在纤毛中的异常积累有关。此外,PI(3,4)P2与PI(3,4,5)P3过度的积累还可能导致纤毛更易降解^[40]。

1.2 鞘脂

鞘脂是组成细胞膜的重要成分之一,具有一个长链氨基醇骨架,该骨架通常由鞘氨醇或其衍生物构成^[41]。在哺乳动物细胞膜中,鞘脂的含量通常在20%到30%左右,而在神经细胞膜中,特别是在神经髓鞘中,鞘脂的比例可能更高。其代谢产物,如神经酰胺,是具有生物活性的信号分子,常作为第二信使参与多种细胞过程,包括细胞生长、分化、衰老、凋亡和许多其他重要的信号转导过程^[42-43]。

神经酰胺对初级纤毛的形成、伸长或维持至关重要。研究表明,在MDCK细胞系中,鞘磷脂酶通过降解鞘磷脂生成神经酰胺,后者进一步通过与蛋白质形成神经酰胺-蛋白复合物促进纤毛的形成^[44]。此外,由中性鞘磷脂酶2合成的超长链神经酰胺(C_{24:1}或C_{24:0})可促进神经细胞中的纤毛生成^[45],C_{16:0}神经酰胺定位于初级纤毛。纤毛中神经酰胺的富集依赖于IFT颗粒(IFT particle,由IFT-A复合物和IFT-B复合物组成),神经酰胺与IFT20相互作用,该相互作用将纤毛膜与轴丝连接起来^[46]。丝氨酸棕榈酰转移酶(serine palmitoyltransferase, SPT)通过鞘脂从头合成途径生成神经酰胺,SPT是纤毛发生的重要调节因子^[47]。研究表明,缺乏SPT的脊椎动物细胞在纤毛发生方面存在缺陷,且神经酰胺减少会增加膜-轴丝距离并产生形态异常的纤毛^[17]。鞘磷脂磷酸二酯酶4(sphingomyelin phosphodiesterase 4, SMPD4)是一种中性鞘磷脂酶,通过分解鞘磷脂生成神经酰胺^[48]。SMPD4突变与脑部疾病(如小脑发育不全)相关,但其机制尚不明确。在神经细胞中,SMPD4突变导致初级纤毛长度缩短,而添加外源性神经酰胺可以恢复纤毛长度。因此,SMPD4介导的神经酰胺生成与纤毛的

维持和疾病的产生有重要的关系^[49]。

在从低等到高等生物的纤毛膜脂中,神经酰胺同样发挥着重要的保守功能。基于对衣藻鞭毛(也称纤毛)和小鼠室管膜细胞的研究,神经酰胺对纤毛发生的调控还表现在其可以与磷酸化糖原合成酶激酶(phosphorylated glycogen synthase kinase, pYGSK)相互作用,使pYGSK聚集在衣藻纤毛的基部和顶端以及鼠室管膜细胞中的运动纤毛上^[50]。糖原合成酶激酶GSK对于调节纤毛长度十分重要,其通过磷酸化微管蛋白影响纤毛的结构和稳定性,并通过调节组蛋白去乙酰化酶6(histone deacetylase 6, HDAC6)的活性来影响纤毛长度。神经酰胺的合成阻断,会导致纤毛长度减少和运动减弱,pYGSK水平降低。同时,研究发现抑制GSK活性与抑制神经酰胺表现出同样的纤毛表型。因此,神经酰胺通过pYGSK调节纤毛发生和运动。

1.3 糖脂

糖脂是由脂质分子和糖分子组成的脂类,广泛存在于细胞膜中,参与细胞识别和信号转导。哺乳动物中的主要糖脂是糖分子与鞘脂形成的糖鞘脂(glycosphingolipid, GSL),它在细胞膜中起着调节细胞信号传递和维持形态的作用^[51]。糖脂在细胞膜中的分布和功能与许多生理和病理过程相关。其代谢失调可导致溶酶体贮积病(lysosomal storage diseases, LSDs)等代谢性疾病,这些疾病是由于糖脂降解酶的缺陷引起的^[52]。此外,糖脂还调节细胞分化、增殖和凋亡,在脂质筏内的信号转导中起重要作用。在纤毛疾病多囊肾中,糖脂的异常代谢被认为是疾病发生和发展的关键因素之一。多囊肾是一种常见的遗传性肾脏疾病,是纤毛接收外界机械力信号功能异常导致的纤毛病,由多囊蛋白编码基因*PC-1*和*PC-2*突变导致,其特征是肾脏内形成多个液体囊肿,研究表明,多囊肾患者的肾组织和细胞中糖脂水平显著升高,尤其是葡糖脑苷脂(glucosylceramide, GlcCer)和乳糖脑苷脂(lactosylceramide, LacCer)^[53]。在有多囊肾中,糖脂的积累可能通过影响脂质筏和纤毛中离子通道,例如PC-2的功能,触发囊肿的形成和生长^[54]。此外,糖脂还可能通过影响表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)等信号通路,促进囊肿的形成和生长^[55]。

神经节苷脂属于糖鞘脂,可以稳定膜的高度曲率^[56],且与动纤毛的形态维持有关,由于纤毛在摆动

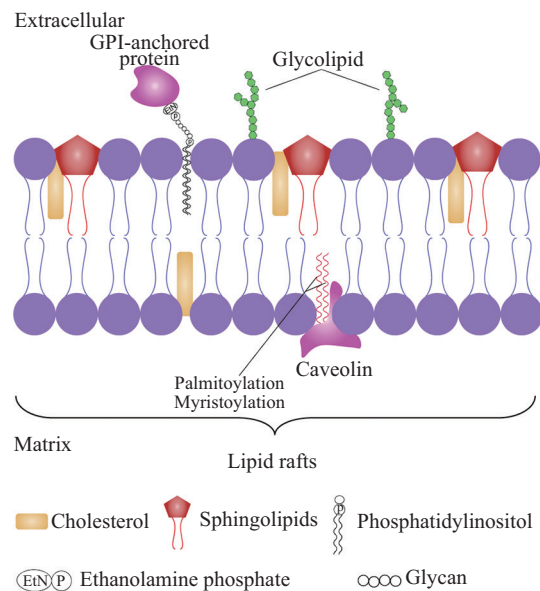
过程中, 纤毛膜具有较大的曲率, 因此需要具有长脂肪酰基链和较大极性头部的糖鞘脂来填充磷脂外层。一个典型的例子是在昏睡病的病原微生物布氏锥虫的鞭毛中, 发现与脂质筏相关的糖鞘脂——神经节苷脂的大量存在。这些糖鞘脂的存在可以稳定锥虫运动中纤毛膜的高度弯曲结构, 对纤毛的形态和功能具有重要影响。因此, 纤毛膜上的糖脂可能是未来治疗热带传染疾病的良好成药靶点^[16]。

1.4 胆固醇

胆固醇是膜脂质的重要组成成分, 由四个碳环(称为甾环)组成, 这种结构使得胆固醇能够在膜中与鞘脂和磷脂相互作用。胆固醇具有一个疏水的甾醇结构和亲水的羟基结构, 这使得它具有两亲特性: 疏水性允许胆固醇嵌入生物膜(图2), 而羟基分子则可以与水分子相互作用。胆固醇分子是一种“刚性”结构, 适量的胆固醇可以增加生物膜的稳定性, 降低膜的流动性, 同时保持膜的适当柔韧性, 使其不易受到外部环境变化的影响。而胆固醇也的确与纤

毛发生相关, 在人肝癌 Huh7 细胞中, 胆固醇通过调节 Rab8 囊泡向中心体运输来影响纤毛发生。另外, 纤毛中多囊蛋白 PC-2 包含一个甾醇结合结构域, 胆固醇衍生物 7 β ,27-二羟基胆固醇 (7 β ,27-dihydroxy cholesterol, DHC) 可以直接与该结构域结合, 特别是与结构域中 E208 和 R581 两个关键氨基酸残基相互作用, 调节 PC-2 的激活。因此, DHC 是激活 PC-2 开启通道所必需的因子, 与 PC-2 功能的维持相关^[19]。

另外, 胆固醇对于 Hh 信号通路的转导起到重要作用。胆固醇可以直接与 Hh 信号通路中的关键蛋白 SMO 结合, 引起构象变化, 从而激活 SMO 蛋白^[57]。SMO 具有多个胆固醇配体结合位点结构域, 包括富含半胱氨酸的结构域 (cysteine-rich domain, CRD) 以及跨膜结构域 (transmembrane domain, TMD), 以及 CRD 与 TMD 之间楔形的连接结构域 (ligand domain, LD)^[58]。其中胆固醇与 SMO 的结合可以被鞘磷脂抑制^[59]。研究表明, Patched-1 是另一种具有多个胆固醇结合位点的纤毛蛋白, 能够降低膜内



脂质筏示意图。脂质筏是富含特定脂质和蛋白质的膜微区, 这些区域包含鞘脂(sphingolipids)、胆固醇(cholesterol)、糖脂(glycolipid)。在脂质筏中, 神经酰胺是主要的鞘脂, 与胆固醇相互作用, 对脂质筏的结构完整性和流动性至关重要。糖脂位于膜的双分子外层, 有助于脂质筏的结构稳定性, 并参与细胞识别和信号转导。除了脂质外, 脂质筏中还包含与纤毛功能相关的膜蛋白, 该类蛋白通过棕榈酰化(palmitoylation)或肉豆蔻酰化(myristoylation)修饰, 紧密结合在膜上, 或通过糖基磷脂酰基醇锚定在纤毛膜上, 参与细胞信号转导。

Schematic diagram of lipid rafts. Lipid rafts are membrane microdomains enriched in specific lipids and proteins, containing sphingolipids, cholesterol, and glycolipids. Within lipid rafts, ceramide serves as the primary sphingolipid, interacting with cholesterol to maintain the structural integrity and fluidity of the rafts. Glycolipids localize to the outer leaflet of the lipid bilayer, contributing to raft stability and participating in cellular recognition and signaling. In addition to lipids, lipid rafts harbor membrane proteins critical for ciliary functions. These proteins are tightly anchored to the membrane via palmitoylation or myristoylation modifications, or through GPI (glycosylphosphatidylinositol) anchors on the ciliary membrane, and are involved in cellular signaling processes.

图2 脂质筏结构与组成

Fig.2 Lipid raft structure and composition

侧的胆固醇水平, 并以此抑制 SMO 蛋白的激活^[60]。Hedgehog(Hh)成熟蛋白由 Hh 前体蛋白经过信号肽切除、N-端棕榈酰化和 C-端胆固醇化的加工过程形成^[1]。Hh 是一种被胆固醇共价修饰的蛋白质^[61]。Hh 的胆固醇化对其空间分布和功能至关重要。成熟 Hh 蛋白与 Patched-1 结合会阻止膜内侧胆固醇含量降低, 从而解除 Patched-1 对 SMO 的抑制^[62]。胆固醇还与一种糖蛋白 CD133(也被称为 prominin-1)相互作用, 使 CD133 定位于纤毛中, 进而 CD133 通过与 ADP 核糖基化因子样蛋白 13B(ADP ribosylation factor like GTPase 13B, ARL13B)和 HDAC6 等纤毛蛋白相互作用, 影响纤毛的组装和解聚。此外, CD133 的 Y828 位点的磷酸化可以促进其与 PI3K 的相互作用, 从而激活纤毛内 AKT 信号转导^[63]。

1.5 脂质筏

脂质筏是一类纳米级的膜微区, 富含胆固醇、鞘脂、小窝蛋白(caveolin)和糖基磷脂酰肌醇(glycosylphosphatidylinositol, GPI)锚定蛋白(图2)。脂质筏广泛存在于质膜中, 介导细胞由外向内的信号转导, 调节细胞增殖、分化和凋亡。近年来, 脂质筏在纤毛膜上的作用也越来越被重视^[64]。脂质筏含有丰富的鞘脂与胆固醇分子, 大多数鞘脂含有一个长链饱和脂肪酸, 这使得它们更容易形成紧密、稳定的结构。饱和脂肪酸链的存在有助于鞘脂与其他分子(如胆固醇)紧密结合, 促进脂质筏的聚合。胆固醇是一种类固醇分子, 其平面结构更好地填补脂质分子之间的空隙, 调控膜的流动性和结构完整性。糖脂位于脂质筏磷脂双层外侧, 糖链部分伸向细胞外环境, 参与细胞间的识别、黏附和信号转导。除了富含脂质成分外, 脂质筏中还含有许多蛋白质成分, 例如 GPI 锚定蛋白定位在脂质筏中, 发挥酶活性、信号转导、辅助受体结合、黏附和参与免疫反应等作用^[65]。此外, 一些信号转导蛋白可以通过棕榈酰化(palmitoylation)和肉豆蔻酰化(myristoylation)修饰连接在脂质筏上, 这些修饰不仅增强了蛋白质与膜的结合能力, 还促进了蛋白质在脂质筏中的聚集, 更有利于信号的转导^[66]。

2 纤毛膜与纤毛生理活动

纤毛膜脂质成分的动态性对于纤毛功能的维持至关重要。纤毛膜中的脂质不仅决定了纤毛膜的物理特性, 如流动性和脂质筏的形成, 还参与了纤毛

相关的信号转导过程。纤毛的脂质动态变化受到多种因素(包括细胞类型、发育阶段以及外界环境的变化)的调控。通过调节脂质的动态变化, 细胞能够控制纤毛的组装、稳定性和转导信号能力。异常的脂质动态变化, 如糖脂的过度积累或鞘脂的不足, 常与纤毛功能紊乱和纤毛病的发生密切相关, 例如多囊肾病和 Bardet-Biedl 综合征。这表明, 纤毛膜脂质成分的精确调控是细胞正常活动的充分且必要的条件。

2.1 纤毛发生和延伸过程的脂类动态变化

纤毛发生过程始于母中心粒。母中心体蛋白 CEP164 为结构蛋白, 在纤毛发生过程中持续存在于中心粒的附属结构上。而 CP110, 另一类结构蛋白, 则需要从中心粒的远端移除才能起始纤毛的发生^[67-69]。CP110 的移除途径之一是由 Tau 微管蛋白激酶 2(tau-tubulin kinase-2, TTBK2)激酶介导的。TTBK2 本身则通过 CEP164 被募集到中心粒上。TTBK2 和 CEP164 均含有与 PI4P 相互作用的磷脂结合位点, 而脂质的结合会破坏 TTBK2/CEP164 复合物形成而影响 TTBK2 向中心体招募^[33,38]。在纤毛发生过程中, PI4P 定位于中心粒, 并被磷酸化为 PI(4,5)P₂, 这使得 CEP164 能够开始招募 TTBK2, 从而促进 CP110 从中心粒远端移除, 最终形成纤毛^[70]。在纤毛生成中, PI3K-C2 α 也发挥关键作用。PI3K-C2 α 是 PI3K 家族的成员, 主要负责产生 PI3P 和 PI(3,4)P₂。PI3K-C2 α 参与了多个细胞过程, 包括内吞、自噬以及纤毛生成^[71]。PI3K-C2 α 富集于初级纤毛基部的中心体周围再循环内体(pericentriolar recycling endocytic, PRE)细胞区, 从而在中心粒周围产生特定的 PI3P 区域^[72]。敲除 *PI3k-C2 α* 会导致 PI3P 区域缺失, 阻碍 Rab11 通过内体循环至中心体, 进而阻止 Rab8 在纤毛上的积累与激活, 影响纤毛的主要蛋白(如 SMO 和 PC-2)的向纤毛运输。研究表明小鼠体内 PI3K-C2 α 同源蛋白缺失, 会导致纤毛发生异常并恢复 Hh 信号通路正常转导, 导致胚胎发育于第 10.5~11.5 天死亡^[73]。在缺乏 PI3K-C2 α 的细胞中, 外源恢复 PI3P 水平可恢复初级纤毛长度并改善 Hh 信号通路。接下来在纤毛生长过程中, INPP5e 会引发某些磷酸肌醇的重新分布。研究表明, 在终末发育的小鼠嗅觉感觉神经元(olfactory sensory neurons, OSNs)中, 条件性缺失 *INPP5e* 会引起纤毛磷脂酰肌醇的重新分布, 导致纤毛显著伸长进而影响嗅觉适应^[74-75]。

2.2 纤毛膜脂质与动纤毛摆动

脂质对动纤毛摆动的影响是一个复杂的过程,涉及多种分子机制。首先,膜脂质的组成直接决定了纤毛膜的流动性,这对纤毛蛋白的活动和离子通道的功能至关重要。例如,研究发现胆固醇含量会影响纤毛膜流动性,从而影响纤毛运动^[76]。其次,磷脂酰肌醇及其代谢产物参与调节纤毛内钙离子浓度。磷脂酰肌醇及其磷酸化产物的代谢平衡由各种磷脂酰肌醇磷酸酶[如电压感应磷酸酶(voltage-sensitive phosphatase, VSP)]严格控制。VSP可将PI(4,5)P₂去磷酸化为PI(4)P,降低了膜上的PI(4,5)P₂水平。PI(4,5)P₂的减少直接影响PI(4,5)P₂依赖的离子通道关闭,从而影响纤毛摆动频率^[77]。同时,鞘脂代谢产物,如神经酰胺对精子鞭毛的摆动功能至关重要^[16]。使用霉菌毒素伏马毒素B1抑制神经酰胺合成,可增加鞘氨醇及其磷酸化衍生物的浓度,并降低神经酰胺和复合鞘脂的水平,从而降低精子鞭毛的摆动能力。

3 纤毛膜与纤毛病

3.1 巴德毕德氏综合征

巴德毕德氏综合征(Bardet-Biedl syndrome, BBS)是一种以肥胖、退行性失明、多指畸形和智力低下为特征的纤毛病,常见视网膜、大脑、生殖器等器官的纤毛发生异常,疾病发生与巴德-毕德氏综合征蛋白复合体(Bardet-Biedl syndrome protein complex, BBSome)的组装、组成或定位缺陷有关^[78]。

BBSome是一个保守的八亚基蛋白复合体,负责对质膜和纤毛膜蛋白进行分类和定位。BBSome通过GTPase ARL6(又称BBS3)被招募到纤毛膜上^[79],BBSome中的BBS5亚基则直接与膜结合,BBS5包含两个与磷脂酰肌醇结合的PH结构域,可优先结合PI3P,但也可与PI(3,4)P₂、PI(3,5)P₂、PI4P和PI5P发生相互作用^[80]。这种直接相互作用对BBSome与膜结合至关重要。研究发现,ARL6能将BBSome募集到脂质体上,在脂质体中加入磷脂酰肌醇能增加BBSome的含量^[81-83],BBSome可通过与PI(3,4)P₂相互作用被招募到过渡区,并促进膜蛋白运输到纤毛膜^[83]。然而,PI(4,5)P₂和PIP₃如何调节过渡区的组成,以及这些脂质水平的疾病相关变化如何导致过渡区扩散屏障功能障碍,目前尚不清楚。在纤毛研究的模式物种衣藻中,有研究报道,一些膜相关蛋白在BBSome

缺失的纤毛中积累,如磷脂酶D(phospholipase D, PLD)、血红蛋白(truncated hemoglobin 1, THB1)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(serine/threonine protein kinase, STPK)等^[84],并且**bbs4**(BBSome缺失突变体)纤毛中脂质组成发生变化,PE作为PLD底物减少30%~50%,硬脂酸增加约500%,甘油和磷酸甘油增加了两到三倍,推测纤毛中脂质成分改变影响纤毛正常功能,导致衣藻的趋光性消失^[85]。光感受器的OS是高度特化的初级纤毛,BBS1蛋白是BBSome蛋白复合体的另一个亚基,BBS1突变导致BBSome功能受到影响。研究发现BBS1突变会破坏OS中的脂质稳态,并导致胆固醇含量增加。尽管该研究尚未明确解释胆固醇增加的原因,但在斑马鱼模型中,敲除BBS1后,OS出现了异常的视盘堆叠,除此之外,研究者发现OS内存在类似于脂质滴的透明球形结构。除了斑马鱼模型外,小鼠模型中也发现BBS1突变伴随OS中膜相关蛋白的总体积累,说明胆固醇的积累可能改变了膜蛋白的分布,从而影响了OS的功能。综上,此类研究证实了BBS1/BBSome对OS中脂类和蛋白质的调节,揭示出BBS疾病视觉缺陷的新机制^[86]。

3.2 朱伯特综合征

朱伯特综合征(Joubert syndrome, JBTS)是一种常染色体隐性遗传病。患者视网膜、肾脏、骨骼、大脑等器官纤毛发生或功能异常^[87],临床通常表现为特定的小脑和脑干畸形,即产生“磨牙状结构”:小脑蚓部发育不全、小脑上角增厚且水平定向以及一个深的小脑间窝,犹如磨牙的侧面观。此外患者智商低下、平衡能力降低^[88],并伴有视网膜营养不良、肝硬化和多指畸形。2009年,JACOBY和BIELAS等^[80,89]发现INPP5e基因突变与JBTS和MORM综合征两种纤毛病综合征有关。INPP5e对于纤毛的发生与正常发挥功能至关重要,如影响纤毛稳定性^[90]、参与Shh信号转导^[91]、调节纤毛蛋白的运输^[61]。纤毛功能异常导致JBTS一系列纤毛病症状。

由于INPP5e参与磷脂酰肌醇代谢,这使人们首次认识到磷酸肌醇在初级纤毛信号调节中的重要性。INPP5e基因编码的磷脂酰肌醇磷酸酶底物是PI(4,5)P₂。JBTS患者的INPP5e基因突变集中在5-磷酸酶结构域内,确实影响了酶的活性,导致了JBTS患者体内的PI(4,5)P₂和PIP₃水平显著降低^[15,92]。

MORM综合征的症状与JBTS相似(如智力障碍和视网膜营养不良),但还表现出JBTS所没有的

临床特征,如肥胖,因此MORM综合征尚不能归类为JBTS范畴^[93]。MORM综合征的突变基因也包括*INPP5e*,该种突变导致*INPP5e*的18个C-端氨基酸缺失,其中包括对纤毛定位至关重要的CAAX基序。CAAX缺失导致*INPP5e*无法在纤毛中定位^[94]。虽然MORM综合征患者体内*INPP5e*的磷酸酶活性没有受到影响,但其不能在纤毛中正常发挥作用而产生纤毛中相应的脂类而导致遗传病,表明了纤毛中的脂类的失调是导致人类遗传病的因素之一。

3.3 眼脑肾综合征

眼脑肾综合征(oculocerebrorenal syndrome)是一种罕见的X连锁隐性遗传病,眼脑肾综合征患者通常患有肾小管病变,临床表现还包括先天性白内障、青光眼、肌无力和智力低下等病症,被认为是纤毛相关疾病之一^[95]。

眼脑肾综合征由*OCRL*基因突变引起^[96],影响了肌醇脂质的代谢。*OCRL*蛋白是一种磷脂酰肌醇5-磷酸酶,能够水解PIP3、PI(3,5)P2产生PI(4,5)P2、PI(5)P等磷脂。研究表明*OCRL*在视网膜色素上皮细胞、成纤维细胞和肾小管细胞的初级纤毛中定位,影响眼睛、大脑、肾脏的功能,*OCRL*突变导致纤毛过渡区PI(4,5)P2含量异常增高,导致纤毛功能发生异常,造成先天性视觉障碍、智力发育迟缓和肾衰竭^[97-98]。此外,在小鼠眼脑肾综合征模型的成纤维细胞中均观察到类似的PI4P含量下降和PI(4,5)P2积累现象,这表明*OCRL*基因突变导致的眼脑肾综合征在不同物种中可能具有相似的分子机制。

3.4 积水综合征

积水综合征(hydroletharus syndrome, HLS)是一种常染色体隐性纤毛病,其特征主要包括胎儿或新生儿出现严重的液体积聚(水肿)、多指畸形、脑部畸形和腭裂等,这些症状严重影响了大脑组织的神经系统,同时也对胚胎发育以及肾脏、眼睛等器官的功能造成了障碍^[99]。研究发现,HLS由保守的中心粒蛋白HYLS1缺失引起^[19]。磷脂酰肌醇激酶PIPKI γ 被HYLS1招募到纤毛基部。在纤毛基部,HYLS1通过抑制PIPKI γ 形成二聚体而使PIPKI γ 激活,催化PI4P生成PI(4,5)P2,加速中心体上PI4P的消耗,促进微管组织中心的稳定和微管的聚合进而促进纤毛形成^[100-101]。HYLS1蛋白不仅通过激活PIPKI γ 促进纤毛生成,还正向调节Hh信号通路。在HYLS1突变细胞中,GPR161不能正常离开纤毛,抑

制Hh信号通路。该结果表明,哺乳动物的HYLS1是一种锚定蛋白,它通过调控脂激酶PIPKI γ ,控制纤毛脂质来促进纤毛的生成和维持纤毛信号的传递。

*HYLS1*突变会损害纤毛发生,该蛋白不会影响纤毛轴丝的延伸,却是中心粒在质膜上的顶端靶向/锚定所必需的,因此将HLS归类为严重的纤毛病^[102]。

3.5 泽尔维格综合征

泽尔维格综合征(Zellweger syndrome, ZS)是一种常染色体隐性遗传病,分子病因是过氧化物酶体缺乏且胆固醇分布异常。患者通常表现出多囊肾、色素性视网膜炎、发育迟缓、肝功能障碍等症状^[103],属于纤毛病一种^[18]。

纤毛需要正常的脂肪酸代谢来维持其结构和功能。ZS患者由于肝脏、肾脏等组织中过氧化物酶体的缺乏导致脂肪酸代谢受阻,胆固醇分布异常,除了影响肝脏的发育和功能外,还近乎影响全身各个组织中细胞的纤毛的形成和功能。具体来说,脂肪酸是细胞膜和细胞内结构(包括纤毛膜)的重要组成部分。如果脂肪酸代谢异常,纤毛的结构会受到损害,导致其功能障碍^[18]。哺乳动物细胞在内质网中从头合成胆固醇,并通过受体介导的低密度脂蛋白内吞作用获得胆固醇^[104]。有研究报道,过氧化物酶体通过接触溶酶体来控制细胞内胆固醇的运输,而ZS患者的细胞由于缺失过氧化物酶体表现出胞质中积累大量胆固醇^[105]。正常情况下,过氧化物酶体沿微管移动并与纤毛袋(ciliary pocket)以膜接触的形式结合,将胆固醇分子运输至纤毛,随后从纤毛中释放^[18]。而ZS患者细胞的这一过程发生异常,导致了纤毛膜中胆固醇水平降低,影响了纤毛内的Hh信号转导,导致了多囊肾、色素性视网膜炎等纤毛病^[18]。

4 讨论和展望

纤毛膜的脂质成分是纤毛发挥生理功能的基础。特定的纤毛脂质成分富集特定的纤毛相关蛋白质,而特定蛋白质的定位又进一步决定了特殊脂类的分布。脂质的空间分布和特异性不仅影响膜的流动性和稳定性,还调控膜蛋白的功能和信号转导。因此,探究脂类和蛋白的相互作用将为揭示纤毛的功能提供新的思路。

在未来对纤毛功能和纤毛病机制的探索中,对于纤毛中纤毛膜的研究可以在以下三方面开展。一方面,利用高分辨率冷冻电镜技术解析纤毛膜蛋白

的精细结构,进一步揭示这些分子与脂质相互作用的空间结构,通过对互作过程的结构解析,分析纤毛膜蛋白的生理功能以及生理功能在病理条件下的改变。这不仅有助于理解正常生理状态下的纤毛功能,还能为研究病理条件下脂质与蛋白质相互作用的改变提供新的视角。通过结构生物学手段联合生化手段,分析这些改变如何导致纤毛功能的紊乱,从而为理解纤毛病的发病机制提供基础。另一方面,解析纤毛和脂质代谢的关系,探索肥胖和脂代谢异常的分子机制。深入探索纤毛脂质在疾病中的重要靶向功能,开发纤毛内脂质靶向药物、脂质补充手段或抑制剂等,在全面理解脂质作为纤毛功能基础物质的同时,为疾病的治疗提供新的思路和策略。最后,纤毛的脂质筏可以作为药物的靶向位点。脂质筏在纤毛中的动态和功能目前尚不清楚,但脂质筏上的蛋白和特异脂类可能在生理活动中发挥重要作用,可能是有利的药物靶向位点。未来研究可以针对未知功能的蛋白和脂类,采用干湿结合的实验方法,在疾病背景下探究脂质筏的成分和功能,为纤毛病甚至其他疾病的治疗提供方向。

参考文献 (References)

- [1] JACOBY M, COX J J, GAYRAL S, et al. Inpp5e mutations cause primary cilium signaling defects, ciliary instability and ciliopathies in human and mouse [J]. *Nat Genet*, 2009, 41(9): 1027-31.
- [2] TIAN X, ZHAO H, ZHOU J. Organization, functions, and mechanisms of the bbsome in development, ciliopathies, and beyond [J]. *eLife*, 2023, doi: 10.7554/eLife.87623.
- [3] PLOTNIKOVA O V, PUGACHEVA E N, GOLEMIS E A. Primary cilia and the cell cycle [J]. *Methods Cell Biol*, 2009, 94: 137-60.
- [4] KANESHIRO E S, MATESIC D F, JAYASIMHULU K. Characterizations of six ethanolamine sphingophospholipids from paramecium cells and cilia [J]. *J Lipid Res*, 1984, 25(4): 369-77.
- [5] MONTESANO R. Inhomogeneous distribution of filipin-sterol complexes in the ciliary membrane of rat tracheal epithelium [J]. *Am J Anat*, 1979, 156(1): 139-45.
- [6] LIN Y C, NIEWIADOMSKI P, LIN B, et al. Chemically inducible diffusion trap at cilia reveals molecular sieve-like barrier [J]. *Nat Chem Biol*, 2013, 9(7): 437-43.
- [7] HILGENDORF K I, MYERS B R, REITER J F. Emerging mechanistic understanding of cilia function in cellular signalling [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2024, 25(7): 555-73.
- [8] GOLDBERG A F, MORITZ O L, WILLIAMS D S. Molecular basis for photoreceptor outer segment architecture [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2016, 55: 52-81.
- [9] RAN J, ZHOU J. Targeting the photoreceptor cilium for the treatment of retinal diseases [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41(11): 1410-5.
- [10] VAN WIJK E, VAN DER ZWAAG B, PETERS T, et al. The dfnb31 gene product whirlin connects to the usher protein network in the cochlea and retina by direct association with ush2a and vlgr1 [J]. *Hum Mol Genet*, 2006, 15(5): 751-65.
- [11] POZZI E. Acebrophylline: an airway mucoregulator and anti-inflammatory agent [J]. *Monaldi Arch Chest Dis*, 2007, 67(2): 106-15.
- [12] ZAMPARO I, FRANCIA S, FRANCHI S A, et al. Axonal odorant receptors mediate axon targeting [J]. *Cell Rep*, 2019, 29(13): 4334-48, e7.
- [13] CHIBA S, AMAGAI Y, HOMMA Y, et al. Ndr2-mediated rabin8 phosphorylation is crucial for ciliogenesis by switching binding specificity from phosphatidylserine to sec15 [J]. *EMBO J*, 2013, 32(6): 874-85.
- [14] WHITING K R, HAER-WIGMAN L, FLORIJN R J, et al. Utilization of automated cilia analysis to characterize novel inpp5e variants in patients with non-syndromic retinitis pigmentosa [J]. *Eur J Hum Genet*, 2024, doi: 10.1038/s41431-024-01627-6.
- [15] DICKSON E J, HILLE B. Understanding phosphoinositides: rare, dynamic, and essential membrane phospholipids [J]. *Biochem J*, 2019, 476(1): 1-23.
- [16] KAISER F, HUEBECKER M, WACHTEN D. Sphingolipids controlling ciliary and microvillar function [J]. *FEBS Lett*, 2020, 594(22): 3652-67.
- [17] WU D, HUANG J, ZHU H, et al. Ciliogenesis requires sphingolipid-dependent membrane and axoneme interaction [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, 119(31): e2201096119.
- [18] MIYAMOTO T, HOSOBATA K, ITABASHI T, et al. Insufficiency of ciliary cholesterol in hereditary zellweger syndrome [J]. *EMBO J*, 2020, 39(12): e103499.
- [19] CURINHA A, HUANG Z, ANGLENT, et al. Centriole structural integrity defects are a crucial feature of hydrolethalus syndrome [J]. *bioRxiv*, 2024, doi: 10.1101/2024.03.06.583733.
- [20] NISHIMURA Y, YAMAKAWA D, UCHIDA K, et al. Primary cilia and lipid raft dynamics [J]. *Open Biol*, 2021, 11(8): 210130.
- [21] NISHIMURA Y. Regulation of adipose progenitors and fibro-adipogenic progenitors through primary cilia [J]. *Nihon Yakurigaku Zasshi*, 2024, 159(4): 188-91.
- [22] FROLOV V A, SHNYROVA A V, ZIMMERBERG J. Lipid polymorphisms and membrane shape [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2011, 3(11): a004747.
- [23] DUTTA P, RAY K. Ciliary membrane, localised lipid modification and cilia function [J]. *J Cell Physiol*, 2022, 237(6): 2613-31.
- [24] MITCHELL D C, STRAUME M, LITMAN B J. Role of sn-1-saturated, sn-2-polyunsaturated phospholipids in control of membrane receptor conformational equilibrium: effects of cholesterol and acyl chain unsaturation on the metarhodopsin i in equilibrium with metarhodopsin ii equilibrium [J]. *Biochemistry*, 1992, 31(3): 662-70.
- [25] HU Q, MILENKOVIC L, JIN H, et al. A septin diffusion barrier at the base of the primary cilium maintains ciliary membrane protein distribution [J]. *Science*, 2010, 329(5990): 436-9.
- [26] HA T S, XIA R, ZHANG H, et al. Lipid flippase modulates olfactory receptor expression and odorant sensitivity in drosophila [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(21): 7831-6.
- [27] ČOPIČ A, DIEUDONNÉ T, LENOIR G. Phosphatidylserine

- transport in cell life and death [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2023, 83: 102192.
- [28] KAY J G, GRINSTEIN S. Phosphatidylserine-mediated cellular signaling [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2013, 991: 177-93.
- [29] BURSTYN-COHEN T, MAIMON A. Tam receptors, phosphatidylserine, inflammation, and cancer [J]. *Cell Commun Signal*, 2019, 17(1): 156.
- [30] RAJOTTE I, HASANBASIC I, BLOSTEIN M. Gas6-mediated signaling is dependent on the engagement of its gamma-carboxyglutamic acid domain with phosphatidylserine [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 376(1): 70-3.
- [31] CHEN C, HU J, LING K. The role of primary cilia-associated phosphoinositide signaling in development [J]. *J Dev Biol*, 2022, doi: 10.3390/jdb10040051.
- [32] JIANG J, HUI C C. Hedgehog signaling in development and cancer [J]. *Dev Cell*, 2008, 15(6): 801-12.
- [33] XU Q, ZHANG Y, WEI Q, et al. Phosphatidylinositol phosphate kinase PIPKIγ and phosphatase inpp5e coordinate initiation of ciliogenesis [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 10777.
- [34] DEAN S, MOREIRA-LEITE F, VARGA V, et al. Cilium transition zone proteome reveals compartmentalization and differential dynamics of ciliopathy complexes [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(35): E5135-43.
- [35] NACHURY M V. The gymnastics of intraflagellar transport complexes keeps trains running inside cilia [J]. *Cell*, 2022, 185(26): 4863-5.
- [36] HAMMOND G R, BALLA T. Polyphosphoinositide binding domains: key to inositol lipid biology [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1851(6): 746-58.
- [37] LEITNER M G, THALLMAIR V, WILKE B U, et al. The N-terminal homology (enth) domain of epsin 1 is a sensitive reporter of physiological PI(4,5)P(2) dynamics [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2019, 1864(3): 433-42.
- [38] DYSON J M, CONDUIT S E, FEENEY S J, et al. Inpp5e regulates phosphoinositide-dependent cilia transition zone function [J]. *J Cell Biol*, 2017, 216(1): 247-63.
- [39] CONDUIT S E, RAMASWAMY V, REMKE M, et al. A compartmentalized phosphoinositide signaling axis at cilia is regulated by inpp5e to maintain cilia and promote sonic hedgehog medulloblastoma [J]. *Oncogene*, 2017, 36(43): 5969-84.
- [40] SCHEID M P, HUBER M, DAMEN J E, et al. Phosphatidylinositol (3,4,5)P3 is essential but not sufficient for protein kinase b (pkb) activation; phosphatidylinositol (3,4)p2 is required for pkb phosphorylation at ser-473: studies using cells from sh2-containing inositol-5-phosphatase knockout mice [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(11): 9027-35.
- [41] MOHAMUD YUSUF A, ZHANG X, GULBINS E, et al. Signaling roles of sphingolipids in the ischemic brain and their potential utility as therapeutic targets [J]. *Neurobiol Dis*, 2024, 201: 106682.
- [42] BOEKHOFF I, BREER H. Termination of second messenger signaling in olfaction [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89(2): 471-4.
- [43] VAN BLITTERSWIJK W J, VAN DER LUIT A H, VELDMAN R J, et al. Ceramide: second messenger or modulator of membrane structure and dynamics [J]? *Biochem J*, 2003, 369(Pt 2): 199-211.
- [44] HE Q, WANG G, DASGUPTA S, et al. Characterization of an apical ceramide-enriched compartment regulating ciliogenesis [J]. *Mol Biol Cell*, 2012, 23(16): 3156-66.
- [45] HE Q, WANG G, WAKADE S, et al. Primary cilia in stem cells and neural progenitors are regulated by neutral sphingomyelinase 2 and ceramide [J]. *Mol Biol Cell*, 2014, 25(11): 1715-29.
- [46] LIM J, LI X, YUAN X, et al. Primary cilia control cell alignment and patterning in bone development via ceramide-pkcζ-β-catenin signaling [J]. *Commun Biol*, 2020, 3(1): 45.
- [47] SASSET L, DI LORENZO A. Sphingolipid metabolism and signaling in endothelial cell functions [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2022, 1372: 87-117.
- [48] AOKI S, WATANABE K, KATO M, et al. Two novel cases of biallelic smpd4 variants with brain structural abnormalities [J]. *Neurogenetics*, 2024, 25(1): 3-11.
- [49] INSKEEP K A, CRASE B, STOTTMANN R W. Smpd4 mediated sphingolipid metabolism regulates brain and primary cilia development [J]. *bioRxiv*, 2023, doi: 10.1101/2023.12.15.571873.
- [50] KONG J N, HARDIN K, DINKINS M, et al. Regulation of chlamydomonas flagella and ependymal cell motile cilia by ceramide-mediated translocation of gsk3 [J]. *Mol Biol Cell*, 2015, 26(24): 4451-65.
- [51] ISHIBASHI Y. Functions and applications of glycolipid-hydrolyzing microbial glycosidases [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2022, 86(8): 974-84.
- [52] LAHIRI S, FUTERMAN A H. The metabolism and function of sphingolipids and glycosphingolipids [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2007, 64(17): 2270-84.
- [53] NATOLI T A, MODUR V, IBRAGHIMOV-BESKROVNAYA O. Glycosphingolipid metabolism and polycystic kidney disease [J]. *Cell Signal*, 2020, 69: 109526.
- [54] SHAYMAN J A. Targeting glucosylceramide synthesis in the treatment of rare and common renal disease [J]. *Semin Nephrol*, 2018, 38(2): 183-92.
- [55] RICHARDS W G, SWEENEY W E, YODER B K, et al. Epidermal growth factor receptor activity mediates renal cyst formation in polycystic kidney disease [J]. *J Clin Invest*, 1998, 101(5): 935-9.
- [56] EGAWA J, PEARN M L, LEMKUIL B P, et al. Membrane lipid rafts and neurobiology: age-related changes in membrane lipids and loss of neuronal function [J]. *J Physiol*, 2016, 594(16): 4565-79.
- [57] KAUSHAL J B, BATRA S K, RACHAGANI S. Hedgehog signaling and its molecular perspective with cholesterol: a comprehensive review [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2022, 79(5): 266.
- [58] BYRNE E F X, SIRCAR R, MILLER P S, et al. Structural basis of smoothened regulation by its extracellular domains [J]. *Nature*, 2016, 535(7613): 517-22.
- [59] KINNEBREW M, IVERSON E J, PATEL B B, et al. Cholesterol accessibility at the ciliary membrane controls hedgehog signaling [J]. *eLife*, 2019, 8.
- [60] SINGLA V, REITER J F. The primary cilium as the cell's antenna: signaling at a sensory organelle [J]. *Science*, 2006, 313(5787): 629-33.
- [61] CHÁVEZ M, ENA S, VAN SANDE J, et al. Modulation of ciliary phosphoinositide content regulates trafficking and sonic hedgehog signaling output [J]. *Dev Cell*, 2015, 34(3): 338-50.

- [62] MYKYTYN K, ASKWITH C. G-protein-coupled receptor signaling in cilia [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2017, doi: 10.1101/cshperspect.a028183.
- [63] PLESKAČ P, FARGEAS C A, VESELSKA R, et al. Emerging roles of prominin-1 (cd133) in the dynamics of plasma membrane architecture and cell signaling pathways in health and disease [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2024, 29(1): 41.
- [64] SIMONS K, SAMPAIO J L. Membrane organization and lipid rafts [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2011, 3(10): a004697.
- [65] KINOSHITA T. Biosynthesis and biology of mammalian gpi-anchored proteins [J]. *Open Biol*, 2020, 10(3): 190290.
- [66] UCHIDA K, OBAYASHI H, MINAMIHATA K, et al. Artificial palmitoylation of proteins controls the lipid domain-selective anchoring on biomembranes and the raft-dependent cellular internalization [J]. *Langmuir*, 2022, 38(31): 9640-8.
- [67] WILLIAMS C L, LI C, KIDA K, et al. MKS and NPHP modules cooperate to establish basal body/transition zone membrane associations and ciliary gate function during ciliogenesis [J]. *J Cell Biol*, 2011, 192(6): 1023-41.
- [68] GOETZ S C, LIEM K F, JR., ANDERSON K V. The spinocerebellar ataxia-associated gene tau tubulin kinase 2 controls the initiation of ciliogenesis [J]. *Cell*, 2012, 151(4): 847-58.
- [69] CAJANEK L, NIGG E A. Cep164 triggers ciliogenesis by recruiting tau tubulin kinase 2 to the mother centriole [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(28): E2841-50.
- [70] HO L K, LIU D, ROZYCKA M, et al. Identification of four novel human phosphoinositide 3-kinases defines a multi-isoform subfamily [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 235(1): 130-7.
- [71] PLOTNIKOVA O V, SEO S, COTTLE D L, et al. Inpp5e interacts with aurka, linking phosphoinositide signaling to primary cilium stability [J]. *J Cell Sci*, 2015, 128(2): 364-72.
- [72] DROLE TORKAR A, AVBELJ STEFANIJA M, BERTOK S, et al. Novel insights into monogenic obesity syndrome due to inpp5e gene variant: a case report of a female patient [J]. *Front Endocrinol*, 2021, 12: 581134.
- [73] FRANCO I, GULLUNI F, CAMPA C C, et al. PI3K class ii α controls spatially restricted endosomal PTDINS3P and rab11 activation to promote primary cilium function [J]. *Dev Cell*, 2014, 28(6): 647-58.
- [74] MIYAMOTO T, HOSOBATA K, AKUTSU S N, et al. Imaging of the ciliary cholesterol underlying the sonic hedgehog signal transduction [J]. *Methods Mol Biol*, 2022, 2374: 49-57.
- [75] CONDUIT S E, VANHAESEBROECK B. Phosphoinositide lipids in primary cilia biology [J]. *Biochem J*, 2020, 477(18): 3541-65.
- [76] SAILER S A, BURKHALTER M D, PHILIPP M. Cholesterol and phosphoinositides in cilia biology [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2023, 1422: 121-42.
- [77] ZHANG L, SANDERSON M J. The role of cgmp in the regulation of rabbit airway ciliary beat frequency [J]. *J Physiol*, 2003, 551(Pt 3): 765-76.
- [78] FORSYTHE E, BEALES P L. Bardet-biedl syndrome [J]. *Eur J Hum Genet*, 2013, 21(1): 8-13.
- [79] LUO N, LU J, SUN Y. Evidence of a role of inositol polyphosphate 5-phosphatase inpp5e in cilia formation in zebrafish [J]. *Vision Res*, 2012, 75: 98-107.
- [80] BIELAS S L, SILHAVY J L, BRANCATI F, et al. Mutations in inpp5e, encoding inositol polyphosphate-5-phosphatase e, link phosphatidylinositol signaling to the ciliopathies [J]. *Nat Genet*, 2009, 41(9): 1032-6.
- [81] SCHMIDT A C, WISE H M, MITCHELL C A, et al. Type ii phosphoinositide 5-phosphatases have unique sensitivities towards fatty acid composition and head group phosphorylation [J]. *FEBS Lett*, 2004, 576(1/2): 9-13.
- [82] LIU Y X, XUE B, SUN W Y, et al. Bardet-biedl syndrome 3 protein promotes ciliary exit of the signaling protein phospholipase d via the bbsome [J]. *eLife*, 2021, doi: 10.7554/eLife.59119.
- [83] JIN H, WHITE S R, SHIDA T, et al. The conserved bardet-biedl syndrome proteins assemble a coat that traffics membrane proteins to cilia [J]. *Cell*, 2010, 141(7): 1208-19.
- [84] LECHTRECK K F, JOHNSON E C, SAKAI T, et al. The chlamydomonas reinhardtii bbsome is an ift cargo required for export of specific signaling proteins from flagella [J]. *J Cell Biol*, 2009, 187(7): 1117-32.
- [85] LECHTRECK K F, BROWN J M, SAMPAIO J L, et al. Cycling of the signaling protein phospholipase d through cilia requires the bbsome only for the export phase [J]. *J Cell Biol*, 2013, 201(2): 249-61.
- [86] MASEK M, ETARD C, HOFMANN C, et al. Loss of the bardet-biedl protein bbs1 alters photoreceptor outer segment protein and lipid composition [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 1282.
- [87] GANA S, SERPIERI V, VALENTE E M. Genotype-phenotype correlates in joubert syndrome: a review [J]. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 2022, 190(1): 72-88.
- [88] BULGHERONI S, D'ARRIGO S, SIGNORINI S, et al. Cognitive, adaptive, and behavioral features in joubert syndrome [J]. *Am J Med Genet A*, 2016, 170(12): 3115-24.
- [89] JACOBY M, COX JJ, GAYRAL S, et al. Inpp5e mutations cause primary cilium signaling defects, ciliary instability and ciliopathies in human and mouse [J]. *Nat Genet*, 2009, 41(9): 1027-31.
- [90] SHARIF A S, GERSTNER C D, CADY M A, et al. Deletion of the phosphatase inpp5e in the murine retina impairs photoreceptor axoneme formation and prevents disc morphogenesis [J]. *J Biol Chem*, 2021, 296: 100529.
- [91] CONSTABLE S, LONG A B, FLOYD K A, et al. The ciliary phosphatidylinositol phosphatase inpp5e plays positive and negative regulatory roles in shh signaling [J]. *Development*, 2020, doi: 10.1242/dev.183301.
- [92] SCHMIDT K N, KUHN S, NEUNER A, et al. Cep164 mediates vesicular docking to the mother centriole during early steps of ciliogenesis [J]. *J Cell Biol*, 2012, 199(7): 1083-101.
- [93] BALLA T. Phosphoinositides: tiny lipids with giant impact on cell regulation [J]. *Physiol Rev*, 2013, 93(3): 1019-137.
- [94] SIERRA POTCHANANT E A, CERABONA D, SATER Z A, et al. Inpp5e preserves genomic stability through regulation of mitosis [J]. *Mol Cell Biol*, 2017, doi:10.1128/MCB.00500-16.
- [95] DE MATTEIS M A, STAIANO L, EMMA F, et al. The 5-phosphatase ocr1 in lowe syndrome and dent disease 2 [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2017, 13(8): 455-70.
- [96] RAMADESIKAN S, SKIBA L, LEE J, et al. Genotype&phenotype in lowe syndrome: specific ocr1 patient mutations differentially impact cellular phenotypes [J]. *Hum Mol Genet*, 2021, 30(3/4): 198-212.
- [97] LUO N, WEST C C, MURGA-ZAMALLOA C A, et al. Ocr1

- localizes to the primary cilium: a new role for cilia in lowe syndrome [J]. *Hum Mol Genet*, 2012, 21(15): 3333-44.
- [98] PROSEDA P P, LUO N, WANG B, et al. Loss of *ocrl* increases ciliary $\text{pi}(4,5)\text{p}(2)$ in lowe oculocerebrorenal syndrome [J]. *J Cell Sci*, 2017, 130(20): 3447-54.
- [99] HONKALA H, LAHTELA J, FOX H, et al. Unraveling the disease pathogenesis behind lethal hydroletharus syndrome revealed multiple changes in molecular and cellular level [J]. *Pathogenetics*, 2009, 2(1): 2.
- [100] LUO N, KUMAR A, CONWELL M, et al. Compensatory role of inositol 5-phosphatase *inpp5b* to *ocrl* in primary cilia formation in oculocerebrorenal syndrome of lowe [J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e66727.
- [101] CHEN C, XU Q, ZHANG Y, et al. Ciliopathy protein *hyls1* coordinates the biogenesis and signaling of primary cilia by activating the ciliary lipid kinase $\text{PIPKI}\gamma$ [J]. *Sci Adv*, 2021, 7(26): eabe3401.
- [102] DAMMERMAN A, PEMBLE H, MITCHELL B J, et al. The hydroletharus syndrome protein *hyls-1* links core centriole structure to cilia formation [J]. *Genes Dev*, 2009, 23(17): 2046-59.
- [103] KLOUWER F C, BERENDSE K, FERDINANDUSSE S, et al. Zellweger spectrum disorders: clinical overview and management approach [J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2015, 10: 151.
- [104] SIMONS K, IKONEN E. How cells handle cholesterol [J]. *Science*, 2000, 290(5497): 1721-6.
- [105] CHU B B, LIAO Y C, QI W, et al. Cholesterol transport through lysosome-peroxisome membrane contacts [J]. *Cell*, 2015, 161(2): 291-306.