

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2023.04.017

# 溶酶体活性影响秀丽隐杆线虫脂肪沉积的作用

陆 芮, 刘 健, 林 燕

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601)

**摘 要:**文章通过在秀丽隐杆线虫的生长培养基(nematode growth medium, NGM)中补充 1 mmol/L 葡萄糖或 0.02 mmol/L 棕榈酸诱导线虫的脂肪沉积, 结果发现, 随着线虫脂肪沉积的增加, 其溶酶体数量和酸化水平显著提升, 说明溶酶体可能参与了营养物诱导的线虫脂肪沉积; 用溶酶体抑制剂氯喹和溶酶体生物合成关键转录因子 *hllh-30* 的突变体抑制线虫溶酶体活性, 结果发现线虫脂肪沉积水平显著降低; 利用线虫溶酶体营养感应和脂代谢相关信号关键分子 *aak-2*、*daf-15* 和 *rsk-1* 的突变体, 发现 mTORC1 信号通路在上述溶酶体影响的线虫脂肪沉积中发挥关键作用, 结果表明, 溶酶体通过 mTORC1 信号通路影响线虫能量营养过剩所导致的脂肪沉积。

**关键词:**溶酶体; 能量营养过剩; 秀丽隐杆线虫; 脂肪沉积

中图分类号: Q418

文献标志码: A

文章编号: 1003-5060(2023)04-0541-06

## Role of lysosomal activity in nutrient-induced *C. elegans* fat deposition

LU Rui, LIU Jian, LIN Yan

(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

**Abstract:** In this paper, 1 mmol/L glucose or 0.02 mmol/L palmitic acid was added to nematode growth medium(NGM) to induce *Caenorhabditis elegans* fat deposition. Along with the increased fat deposition, lysosomal numbers and acidification levels were also elevated. This suggests that lysosome might regulate nutrient-induced fat deposition. Using lysosomal inhibitor chloroquine and the mutant of *hllh-30* that is a key gene involving in lysosomal biosynthesis to inhibit the activity of lysosome, this paper found that lysosome inhibition significantly reduced *C. elegans* fat deposition. Utilizing various mutants of *aak-2*, *daf-15* and *rsk-1*, which are key factors in lysosomal nutrient sensing and lipid metabolism-related signaling pathways, the paper explored that mTORC1 signaling pathway mediated the effect of lysosome on nutrient-induced fat deposition in *C. elegans*. The results show the role of lysosomal activity in nutrient-induced *C. elegans* fat deposition.

**Key words:** lysosome; overnutrition; *Caenorhabditis elegans*; fat deposition

秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)简称线虫, 作为一种模式生物, 已经被应用于肥胖相关脂肪沉积的研究中。线虫具有饲养条件简单、生命周期较短、体积小、通体透明以及遗传操作便利等优点<sup>[1]</sup>。由于线虫的身体是透明的, 利用亲脂染料(油红 O<sup>[2]</sup>、尼罗红、苏丹黑等)与脂滴特异性结合, 可以直接观察到线虫体内脂肪的储存。在

线虫中, 脂质是以脂滴的形式储存在肠道和皮下的细胞中<sup>[3]</sup>。由于脂滴是由单层磷脂膜包被的球形结构<sup>[4]</sup>, 通过绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)标记的脂滴特异性膜蛋白 DHS-3, 也可以直接观察线虫脂肪沉积水平<sup>[5]</sup>。此外, 作为脂肪沉积研究模型, 线虫中还存在着大量与哺乳动物脂质代谢相关的同源基因, 保守地调控了

收稿日期: 2021-04-06; 修回日期: 2021-05-10

基金项目: 国家自然科学基金面上资助项目(32070757)

作者简介: 陆 芮(1995—), 女, 安徽淮北人, 合肥工业大学硕士生;

刘 健(1970—), 男, 安徽合肥人, 博士, 合肥工业大学教授, 博士生导师;

林 燕(1986—), 女, 安徽蚌埠人, 博士, 合肥工业大学讲师, 通信作者, E-mail: 2020800035@hfut.edu.cn.

线虫脂肪代谢与能量稳态。其中,与溶酶体活性直接相关的 AMP-激活蛋白激酶(哺乳动物简称为 AMPK,线虫简称为 AAK-2)和雷帕霉素靶蛋白(mechanistic target of rapamycin, mTOR)等信号通路关键地调控了线虫脂肪沉积<sup>[6-9]</sup>。

溶酶体作为一种高酸性的细胞器,含有多种水解酶,降解无功能的细胞器和蛋白质等物质维持细胞稳态。然而,除降解功能外,溶酶体还参与多种细胞过程,包括营养感受、分泌、质膜修复、细胞信号转导和能量代谢调控等<sup>[10]</sup>。有报道指出,溶酶体感应细胞营养状态,激活溶酶体-细胞核信号,调节营养缺乏反应和能量代谢。在饥饿状态下,肝激酶 B1(liver kinase B1, LKB1)被募集到溶酶体膜上。作为核心细胞能量和营养感受器,AMPK 被 LKB1 活化于溶酶体表面。此外,LKB1 导致 mTORC1 与溶酶体的解离,抑制其活性,进而导致 mTORC1 依赖的转录因子 EB(transcription factor EB, TFEB)磷酸化降低,促进其跨核转运,从而激活溶酶体生物合成和脂质分解代谢相关基因表达<sup>[11-14]</sup>。在营养充足状态下,mTORC1 定位于溶酶体膜上,抑制 TFEB 的核定位,降低溶酶体生物发生和自噬<sup>[14-16]</sup>。因此,溶酶体参与了饥饿状态下的营养感知和脂质分解代谢。但是,关于溶酶体是否参与了营养过剩导致的脂肪合成的作用还不明确。

本文在标准线虫生长培养基(nematode growth medium, NGM)中补充 1 mmol/L 葡萄糖或 0.02 mmol/L 棕榈酸来诱导线虫的脂肪沉积。利用油红 O 染色和 LysoTracker Green 染色检测线虫脂肪沉积和溶酶体活性的变化。利用溶酶体抑制剂氯喹和溶酶体生物合成关键转录因子 *hlh-30*(哺乳动物 *TFEB* 的同源基因)的突变体抑制线虫溶酶体活性。利用线虫溶酶体营养感应和脂代谢相关信号关键分子 *aak-2*、*daf-15*、*rsk-1* 的突变体发现,溶酶体通过 mTORC1 信号通路影响线虫能量营养过剩所导致的脂肪沉积。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

野生型(N2)线虫,线虫突变体 RT258(*unc119(ed3) III; pvtIs50*)、LIU1(*ldrIs1 [dhs-3p::dhs-3::GFP + unc-76(+)]*)、*hlh-30(tm1978)*、*aak-2(ok524)*、*daf-15(ok1412)* 和 *rsk-1(ok1255)*,均购于国际线虫中心(*Caenorhabditis* Genetic Center, CGC)。

### 1.2 主要试剂

胆固醇、蛋白胨、酵母粉、琼脂粉、油红 O、棕榈酸、链霉素、左旋咪唑等均购于 Sigma-Aldrich 试剂公司;LysoTracker Green、琼脂糖均购于 Invitrogen 试剂公司;甘油、氯化钠、氢氧化钠、硫酸镁、氯化钙、无水乙醇、1,2 丙二醇、次氯酸钠、胆固醇、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、葡萄糖、甲醛等试剂均购于国药集团化学试剂有限公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 线虫生长培养基的配置

在本实验中,除非特别注明,蠕虫是在 20 °C 的标准条件下培养的<sup>[17]</sup>。

标准 NGM 的配制。称取 3 g 氯化钠、2.5 g 蛋白胨和 17 g 琼脂粉,加入蒸馏水至 1 L 并混匀,121 °C 灭菌 30 min。灭菌结束后,向上述培养基中加入过滤除菌的 25 mL 磷酸钾缓冲液(pH 值为 6.0)、1 mol/L 氯化钙、1 mol/L 硫酸镁和 5 g/L 胆固醇(溶剂为无水乙醇试剂)各 1 mL,混合均匀。待溶液冷却到 60 °C,加入 1 mL 的 30 g/L 链霉素,混合均匀后倒入培养皿中,静置凝固后备用。

补充葡萄糖 NGM 的配制。待上述标准 NGM 溶液温度降至 60 °C 左右时,将 1 mL 过滤除菌的 1 mol/L 葡萄糖母液,加入到 1 L 培养基中,混合均匀后,倒入培养皿中,静置凝固后备用。

补充棕榈酸 NGM 的配置。在上述标准 NGM 配制过程中,称取 0.005 g 的棕榈酸粉末,加入到 NGM 中,121 °C 灭菌 30 min,冷却凝固后备用。

#### 1.3.2 线虫的培养

将进入产卵期 1~2 d 的线虫,用约 1 mL M9 缓冲液洗至 1.5 mL 的离心管内,多次清洗以除净大肠杆菌,最后保留 700  $\mu$ L。在上述离心管中,加入 300  $\mu$ L 现配的裂解液(5 mol/L 氢氧化钠与 5%次氯酸钠的体积比为 1:2)混匀。静止 2 min 后,反复震荡 2~3 次,直至 2/3 的线虫裂解,6 000 r/min 离心 1.5 min,弃上清。裂解的卵用 M9 缓冲液洗 3 次后,于 M9 缓冲液中 20 °C 孵化至 L1 期幼虫。将 L1 时期线虫,分别转移到具有 OP50 大肠杆菌的标准 NGM、补充葡萄糖或棕榈酸的 NGM 板上,于 20 °C 培养至成虫。

#### 1.3.3 线虫的油红 O 染色

按照标准方法进行油红 O 染色,并稍加修改<sup>[3]</sup>。称取 0.5 g 油红 O 粉末溶于 100 mL 1,2-丙二醇中,以配置 0.5%油红 O 染液,静置 1 周后使用。染色前,油红 O 溶液通过 0.22  $\mu$ m 滤膜过滤。

用 M9 缓冲液,将成虫从 NGM 板上冲洗到离心管中。在离心管中,加入 1 mL M9 缓冲液和 50  $\mu$ L 10% 甲醛, -80  $^{\circ}$ C 放置 10 min,反复冻融 3 次(第 3 次在冰上解冻 1 h)。完全融化后,用预冷的 M9 缓冲液洗涤 3 次。最后,用 1,2-丙二醇脱水 5min,离心除去 1,2-丙二醇,再加入 1.5 mL 油红 O 染液,37  $^{\circ}$ C 恒温,染色 4 h。染色后,分别用 98%、85% 的 1,2-丙二醇和 M9 缓冲液洗涤,滴加在 2% 的琼脂糖垫上成像。至少对 30 只线虫成像,并使用 Image-Pro Plus 6.0 软件(Media Cybernetics)定量油红 O 阳性面积比率。油红 O 阳性面积比率指线虫经过亲脂性染料油红 O 染色所呈红色区域占整只线虫面积的比率。

### 1.3.4 线虫的溶酶体绿色荧光染色

LysoTracker Green 染色按照标准方法进行,但略有修改<sup>[18]</sup>。将 LysoTracker Green 染料与过夜培养的 OP50 菌液以 1 : 1 000 的比例混合,均匀涂布在 NGM 板上,37  $^{\circ}$ C 避光过夜。将 L1 时期线虫置于 NGM 培养基上,20  $^{\circ}$ C 避光培养至成虫。最后,将成虫用 50  $\mu$ mol/L 左旋咪唑麻醉,置于 2% 琼脂糖垫上,使用尼康 ECLIPSE E600 显微镜对至少 30 只线虫成像,并使用 Image-Pro Plus 6.0 软件(Media Cybernetics)定量绿色荧光面积比率。绿色荧光面积比率指线虫经过 LysoTracker Green 染色所呈绿色荧光区域占整只线虫面积的比率。

### 1.3.5 线虫 DHS-3::GFP 荧光拍照及定量

将 DHS-3 融合绿色荧光(DHS-3::GFP)成虫用 50  $\mu$ mol/L 左旋咪唑麻醉,置于 2% 琼脂糖垫上,使用尼康 ECLIPSE E600 显微镜对至少 30 只线虫进行了成像,并使用 Image-Pro Plus 6.0 软件(Media Cybernetics)定量绿色荧光面积比率。绿色荧光面积比率指线虫脂滴特异性膜蛋白 DHS-3 融合 GFP 表达面积占整只线虫面积的比率。

### 1.3.6 统计学处理

文中所有的数据均为(平均值 $\pm$ 标准差),不同的样本两两比较采用 t 检验,多组比较采用 one-way ANOVA 和 two-way ANOVA,使用 Prism 5.0 版(GraphPad Software, CA, USA) 进行统计分析。无营养物补充与葡萄糖或棕榈酸补充比较,\*、\*\*、\*\*\* 分别表示  $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 、 $P < 0.001$  时结果具有统计学意义。无抑制剂与氯喹处理比较、N2 组与 *h1h-30(tm1978)* 比较,#、##、### 分别表示  $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 、 $P < 0.001$  时结果具有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 营养物对线虫脂肪沉积的影响

为了研究营养物补充对线虫脂肪沉积的影响,本文在标准 NGM 中补充 1 mmol/L 葡萄糖或 0.02 mmol/L 棕榈酸来诱导 L1 时期线虫,并观察其脂肪沉积。本文利用油红 O 染色发现,葡萄糖或棕榈酸的补充增加了 N2 线虫的脂肪沉积水平,如图 1a 所示。为了进一步验证上述结果,使用脂滴蛋白 DHS-3::GFP 标记的线虫 LIU1 检测营养物对脂肪沉积的诱导作用,观察到补充葡萄糖或棕榈酸增加了 DHS-3::GFP 的表达,如图 1b 所示。结果表明,补充葡萄糖或棕榈酸显著增加了线虫的脂肪沉积。

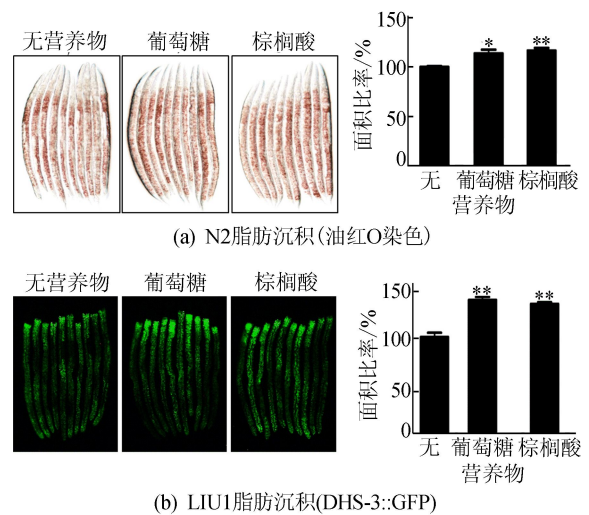


图1 葡萄糖或棕榈酸补充对线虫脂肪沉积的影响

### 2.2 营养物对线虫溶酶体数量和酸化的影响

溶酶体是一种高度酸化的细胞器,富含脂肪酶、核酸酶和蛋白酶等多种水解酶。这些溶酶体水解酶在 pH = 5.0 时活性最佳<sup>[19]</sup>。LysoTracker Green 是嗜酸性荧光探针,能通透细胞膜,用于活细胞内酸性细胞器的标记和示踪<sup>[20]</sup>。因此, LysoTracker Green 是一种溶酶体绿色荧光探针,可以用于活细胞溶酶体特异性荧光染色。为了明确溶酶体在营养过剩状态下的感应作用,本文利用 LysoTracker Green 染色检测葡萄糖或棕榈酸补充对 N2 线虫溶酶体数量和酸化的影响,如图 2a 所示。由图 2a 可知,营养物补充后,随着脂肪沉积的增加,线虫的绿色荧光面积显著增大,表明营养物的补充增加了溶酶体的数量和酸化。本文利用溶酶体膜蛋白 LMP-1 融合绿色荧光(LMP-1::GFP) 标记的线虫 RT258 来监测溶酶体数量变化,也获得

了相似的结果,如图 2b 所示。因此,溶酶体活性可能调控了营养物诱导的线虫脂肪沉积。

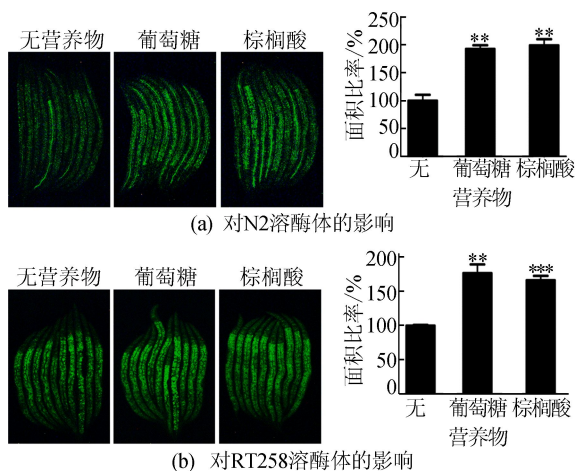


图 2 补充葡萄糖或棕榈酸对线虫溶酶体数量和酸化的影响

### 2.3 溶酶体对线虫脂肪沉积的影响

本文研究溶酶体活性抑制对营养物诱导的线虫脂肪沉积的影响,如图 3 所示。由图 3a 可知,在 N2 线虫中,氯喹(100  $\mu\text{mol/L}$ )的处理显著抑制了葡萄糖或棕榈酸所导致的溶酶体数量和酸化的增加。

由图 3d 可知,氯喹的处理也显著抑制了葡萄糖或棕榈酸所诱导的线虫脂肪沉积增加。与上述结果相似,在 RT258 线虫中,利用氯喹抑制溶酶体活性,也显著降低了营养物诱导的脂肪沉积,如图 3b、图 3e 所示。

在线虫中,碱性螺旋环螺旋转录因子 HLH-30(helix-loop-helix transcription factor)是 TFEB 的同源蛋白,其响应细胞的营养状况,调控溶酶体生物合成和脂解相关基因表达<sup>[21]</sup>。

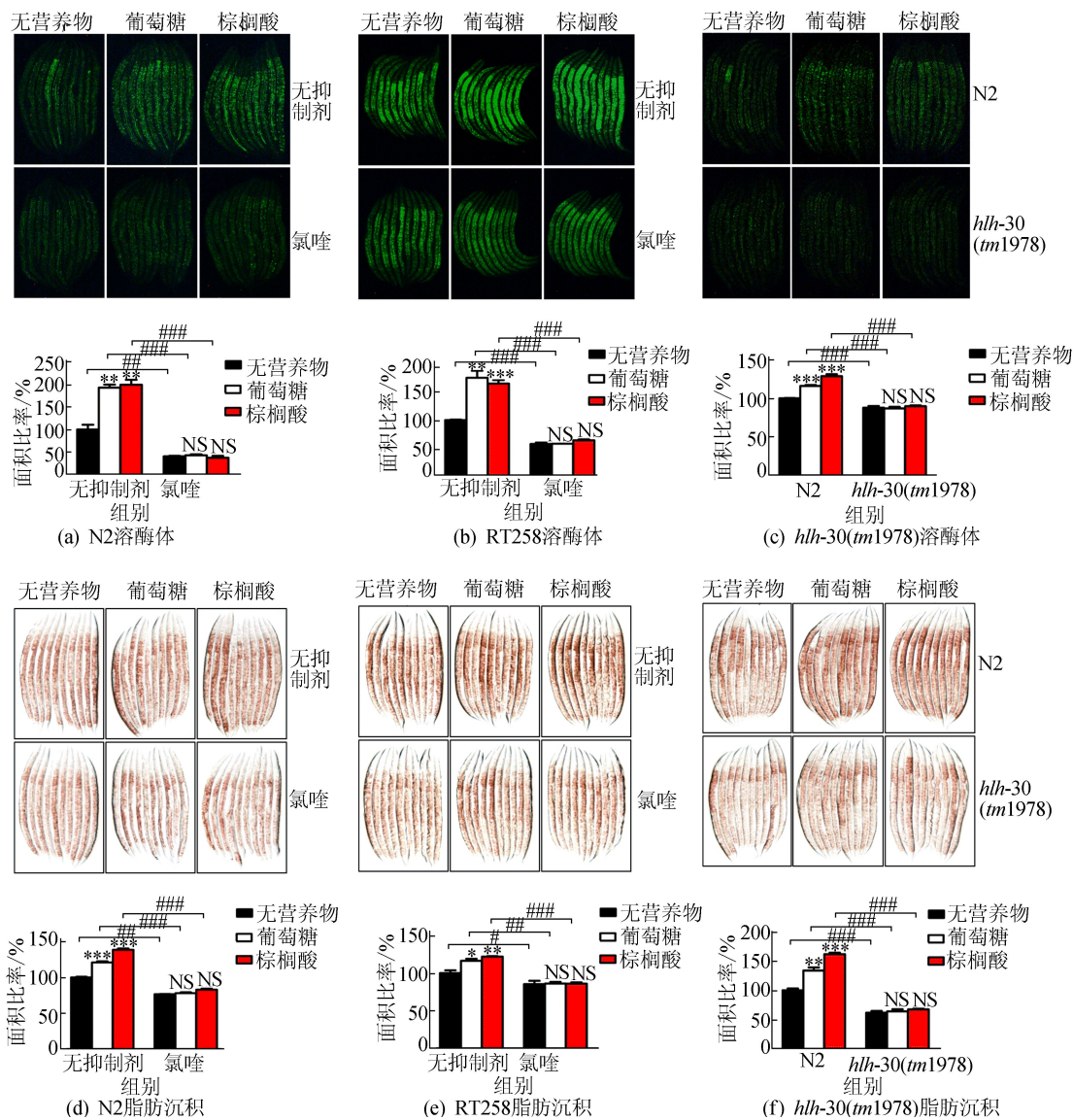


图 3 溶酶体抑制对营养物诱导的线虫脂肪沉积的影响

本文利用 *hllh-30* 突变体降低溶酶体的生物合成,结果发现,相对于 N2 线虫,*hllh-30* 突变体显著抑制了葡萄糖或棕榈酸所诱导的溶酶体数量和酸化的增加,降低了线虫的脂肪沉积,如图 3c、图 3f 所示。因此,溶酶体活性关键地调控了营养物诱导的线虫脂肪沉积。

### 2.4 mTORC1 信号通路对线虫脂肪沉积的影响

在线虫中,一些保守的信号通路(如 AMPK 和 mTORC1)已被证实参与了溶酶体营养状态的感应和线虫脂肪沉积的调控<sup>[8-9]</sup>。为了探究溶酶体调控线虫脂肪沉积所依赖的信号通路,本文利用这些信号通路关键分子的突变体 *aak-2* (*ok524*) (AMPK 信号相关)、*daf-15* (*ok1412*) (mTORC1 信号相关) 和 *rsk-1* (*ok1255*) (mTORC1 信号相关) 进行更深入的研究。结果

发现,与 N2 线虫相比,*aak-2* (*ok524*)、*daf-15* (*ok1412*) 和 *rsk-1* (*ok1255*) 突变体的溶酶体数量和酸化水平及其脂肪沉积都是降低的。与对照组 N2 线虫相似,补充葡萄糖或棕榈酸显著增加了 *aak-2* (*ok524*) 突变体中溶酶体的数量和酸化,并且增加其脂肪沉积,如图 4 所示。然而,在 *daf-15* (*ok1412*) 和 *rsk-1* (*ok1255*) 突变体中补充葡萄糖或棕榈酸对溶酶体的数量、酸化以及脂肪沉积均没有显著作用。

这些现象与溶酶体抑制剂氯喹处理和 *hllh-30* (*tm1978*) 突变体抑制溶酶体活性、降低营养物诱导的线虫脂肪沉积的结果相似,进一步说明溶酶体参与了调控营养物诱导的脂肪沉积。结果表明,溶酶体通过 mTORC1 信号通路影响线虫能量营养过剩所导致的脂肪沉积。

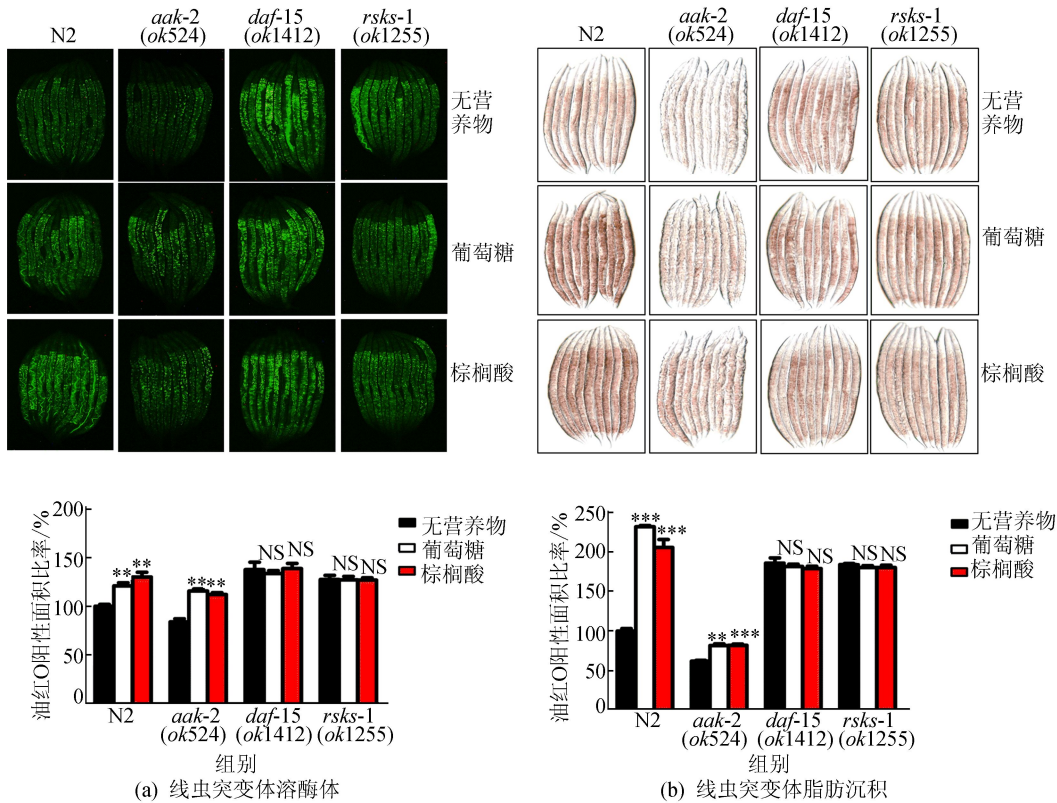


图 4 mTORC1 信号通路介导溶酶体对线虫脂肪沉积的影响

## 3 结 论

本文将 1 mmol/L 葡萄糖或 0.02 mmol/L 棕榈酸补充到标准 NGM 中诱导线虫脂肪沉积。溶酶体作为营养再生中心,在感应细胞内外营养物质和细胞内的能量检测中发挥重要作用,随着脂肪沉积的增加,线虫溶酶体数量和酸化水平也

显著增强,结果说明溶酶体可能参与了营养物诱导的线虫脂肪沉积。

本文利用溶酶体抑制剂氯喹和溶酶体生物合成关键转录因子 *hllh-30* (*tm1978*) 的突变体,确定抑制溶酶体活性能够降低线虫脂肪的沉积。并利用 *aak-2* (*ok524*)、*daf-15* (*ok1412*) 和 *rsk-1* (*ok1255*) 等多种突变体发现,溶酶体通过

mTORC1 信号通路影响线虫能量营养过剩所导致的脂肪沉积。

细胞处于饥饿状态下,细胞内溶酶体生物合成相关的主要调节因子 TFEB 跨核转运,进入细胞核内,促进溶酶体的生物合成,增加脂质分解代谢相关基因表达<sup>[22]</sup>。在营养限制的情况下,肝细胞中的脂滴通过与溶酶体直接的稳定接触,将蛋白质和脂质转移到溶酶体中进行降解,从而维持肝内脂质平衡<sup>[23]</sup>。因此,溶酶体感应细胞的饥饿状态,并参与了细胞的脂质分解代谢。但是,关于溶酶体参与营养过剩导致脂肪合成的作用还不明确。本研究在线虫中发现溶酶体活性在体内调控营养过剩导致脂肪沉积的作用及其分子机制,丰富了溶酶体在营养感应中的功能研究。

### [参 考 文 献]

- [1] BAUMEISTER R, GE L. The worm in us-*Caenorhabditis elegans* as a model of human disease[J]. Trends in Biotechnology, 2002, 20(4): 147-148.
- [2] O'ROURKE E J, SOUKAS A A, CARR C E, et al. *C. elegans* major fats are stored in vesicles distinct from lysosome-related organelles[J]. Cell Metabolism, 2009, 10(5): 430-435.
- [3] WALTHER T C, FARESE R V. Lipid droplets and cellular lipid metabolism[J]. Annual Review of Biochemistry, 2012, 81(1): 687-714.
- [4] GOMES A F, MAGALHAES K G, RODRIGUES R M, et al. Toxoplasma gondii-skeletal muscle cells interaction increases lipid droplet biogenesis and positively modulates the production of IL-12, IFN- $\gamma$  and PGE 2[J]. Parasites & Vectors, 2014, 7(1): 47.
- [5] HNA B, PENG Z, YONG C A, et al. Identification of lipid droplet structure-like/resident proteins in *Caenorhabditis elegans*[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research, 2015, 1853(10): 2481-2491.
- [6] MULLANEY B C, ASHREFI K. *C. elegans* fat storage and metabolic regulation[J]. BBA-Molecular and Cell Biology of Lipids, 2009, 1791(6): 474-478.
- [7] BARROS A G, LIU J, LEMIEUX G A, et al. Analyses of *C. elegans* fat metabolic pathways[J]. Methods in Cell Biology, 2012, 107: 383-407.
- [8] ASHRAFI K. Obesity and the regulation of fat metabolism [M]//WormBook. 2007: 1-20. <http://www.wormbook.org/chapters/www.obesity/obesity.pdf>.
- [9] LI Y, XU S Q, MIHAYLOVA M M, et al. AMPK phosphorylates and inhibits SREBP activity to attenuate hepatic steatosis and atherosclerosis in diet-induced insulin-resistant mice[J]. Cell Metabolism, 2011, 13(4): 376-388.
- [10] HANNA A, PETRA W, KATARINA K, et al. The lysosome: from waste bag to potential therapeutic target[J]. Journal of Molecular Cell Biology, 2013(4): 214-226.
- [11] ZHANG C S, JIANG B, LI M, et al. The lysosomal v-ATPase-ragulator complex is a common activator for AMPK and mTORC1, acting as a switch between catabolism and anabolism[J]. Cell Metabolism, 2014, 20(3): 526-540.
- [12] SANCAK Y, PETERSON T R, SHAUL Y D, et al. The rag GTPases bind raptor and mediate amino acid signaling to mTORC1[J]. Science, 2008, 320(5882): 1496-1501.
- [13] SETTEMBRE C, ZONCU R, MEDINA D L, et al. A lysosome-to-nucleus signalling mechanism senses and regulates the lysosome via mTOR and TFEB[J]. EMBO Journal, 2012, 31(5): 1095-1108.
- [14] SETTEMBRE C, CEGLI R D, MANSUETO G, et al. TFEB controls cellular lipid metabolism through a starvation-induced autoregulatory loop[J]. Nature Cell Biology, 2013, 15(6): 647-658.
- [15] KOROLCHUK V I, SAIKI S, LICHTENBERG M, et al. Lysosomal positioning coordinates cellular nutrient responses[J]. Nature Cell Biology, 2011, 13(4): 453-460.
- [16] MARTINA J A, YONG C, GUCEK M, et al. mTORC1 functions as a transcriptional regulator of autophagy by preventing nuclear transport of TFEB[J]. Autophagy, 2012, 8(6): 903-914.
- [17] BRENNER S. The genetics of *Caenorhabditis elegans*[J]. Genetics, 1974, 77(1): 71-94.
- [18] FOLICK A, OAKLEY H D, YU Y, et al. Lysosomal signaling molecules regulate longevity in *Caenorhabditis elegans*[J]. Science, 2015, 347(6217): 83-86.
- [19] SEAMAN M N J. Cargo-selective endosomal sorting for retrieval to the Golgi requires retromer[J]. Journal of Cell Biology, 2004, 165(1): 111-122.
- [20] VAND V J L, BERTONCELLO I, MCQUALTER J L. LysoTracker is a marker of differentiated alveolar type II cells[J]. Respir Res, 2013, 14(1): 123.
- [21] LAPIERRE L R, FILHO C D D M, MCQUARY P R, et al. The TFEB orthologue HLH-30 regulates autophagy and modulates longevity in *Caenorhabditis elegans*[J]. Nature Communications, 2013, 4: 2267.
- [22] SARDIELLO M, BALLABIO A. Lysosomal enhancement: a CLEAR answer to cellular degradative needs[J]. Cell Cycle, 2009, 8(24): 4021-4022.
- [23] SCHULZE R J, KRUEGER E W, WELLER S G, et al. Direct lysosome-based autophagy of lipid droplets in hepatocytes[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2020, 117(51): 32443-32452.

(责任编辑 闫杏丽)