

DOI: 10.11964/jfc.20240514522

· 综述 ·

CTP:磷酸胆碱胞苷酰转移酶 α (CCT α) 在膜脂生成和脂质代谢中的作用及调控研究进展

艾庆辉^{1,2*}, 战蕊¹

1. 中国海洋大学, 农业农村部水产动物养殖营养与饲料重点实验室, 海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003; 2. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室, 海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 山东 青岛 266237

摘要: 磷脂酰胆碱 (PC) 是细胞膜磷脂的主要成分, 具有重要的生物学功能。PC 的主要合成途径是 CDP-胆碱途径, 而 CTP:磷酸胆碱胞苷酰转移酶 (CCT) 是该途径的关键限速酶, 也是维持 PC 稳态的关键因素。CCT α 是 CCT 家族主要亚型之一, 广泛分布于哺乳动物各器官与组织中, 且在膜脂生成与脂质代谢等过程中扮演重要角色。近年来的研究显示, CCT α 同样存在于鱼类中, 且在鱼类脂质代谢中具有关键调控作用。本文将对 CCT α 在哺乳动物和鱼类膜脂生成与脂质代谢中的功能和调控作用进行综述, 探讨 CCT α 作为调控鱼类营养性代谢紊乱的靶点分子的潜力, 以为鱼类健康养殖提供理论依据。

关键词: CTP:磷酸胆碱胞苷酰转移酶 α (CCT α); 磷脂酰胆碱; 膜脂生成; 脂质代谢

磷脂 (PL) 是真核生物细胞膜的主要组成成分, 磷脂成分的变化在很大程度上会影响细胞的代谢稳态。其中, 磷脂酰胆碱 (PC) 是细胞膜磷脂的主要成分。PC 合成的主要途径是 CDP-胆碱途径。Kennedy 等^[1] 于 1956 年首次发现 CDP-胆碱的合成过程, 并揭示了大鼠 (*Rattus norvegicus*) 肝脏提取物中磷酸胆碱转化为 PC 的途径: ①胆碱在胆碱激酶的作用下生成磷酸胆碱; ②磷酸胆碱在 CTP:磷酸胆碱胞苷酰转移酶 (CCT) 的作用下生成 CDP-胆碱; ③ CDP-胆碱与甘油二酯在胆碱磷酸转移酶的作用下生成 PC。对大鼠肝脏中代谢物的分析发现, CDP-胆碱的产生是该途径的限速步骤, 因此 CCT 是该途径的限速酶^[2], 是维持 PC 稳态的关键因素^[3-4]。CCT α 是 CCT 家族主要成员, 其通过磷酸化修饰及亚细胞定位动态调控 PC 合成速率, 从而影响膜流动性、囊泡形成及细胞信号传导等生物学过程^[5]。本文将对 CCT α 的研究进展及其具体功能的相关研究进行综述, 并探讨在鱼类中的研究进展及潜在研究方向。

1 CCT α 概述及结构

1.1 CCT 编码基因及定位

哺乳动物 CCT 由 PCYT1A 和 PCYT1B 基因编码, 形成两种主要



通信作者: 艾庆辉, 中国海洋大学水产学院院长、青岛市知联会副会长, 教育部“长江学者奖励计划”特聘教授、国家杰出青年科学基金获得者、中组部“万人计划”高层次人才、科技部“中青年科技创新领军人才”。主要从事鱼类脂类营养及免疫代谢相关研究, 主持国家高技术研究发展计划 (863 计划)、科技部国际合作项目、国家自然科学基金重点项目、山东省联合基金项目等。近年来, 发表 SCI 论文 200 余篇, 2017—2023 年连续七年入选 Elsevier 高被引用学者。目前担任水产动物营养与饲料专业委员会主任委员、中国高科技产业化研究会饲料分会副理事长、教育部科技委农林学部委员等; 担任水产领域国内外主流刊物《水产学报》副主编, 《Aquaculture Research》副主编、《Aquaculture》section 主编等。
E-mail: qhai@ouc.edu.cn



资助项目: 国家自然科学基金 (31830103, U2106232); 国家海水鱼产业技术体系 (CARS-47-11)

收稿日期: 2024-05-16

修回日期: 2024-05-20

文章编号:

1000-0615(2025)06-069601-08

中图分类号: Q 71; S 963

文献标志码: A

作者声明 本文无利益冲突

©《水产学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)
Copyright © Editorial Office of Journal of Fisheries of China (CC BY-NC-ND 4.0)



亚型: CCT α 和 CCT β (包括 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 等剪接变体)。CCT α 在各组织中广泛表达 (尤其在增殖活跃的细胞中), 依赖 N 端核定位信号 (NLS) 定位于细胞核; CCT β 呈现组织特异性表达 (如小脑、睾丸), 且因缺乏 NLS 而主要定位于细胞质中^[5-6]。两种亚型均具有多个磷酸化位点的羧基末端结构域, 参与调控其活性和亚细胞定位^[7]。

1.2 CCT α 结构

人类 CCT α 含有 367 个氨基酸 (aa), 结构可分为四个功能区: N 端核定位信号 (nuclear localization signal, NLS)、中心催化结构域 (C)、膜结合两亲性螺旋区 (M) 和 C 端磷酸化 (P) 结构域。CCT α 主要作为同源二聚体形式发挥作用^[8]。

CCT α 中的 NLS 一般由一段碱性氨基酸组成^[9], 由 75 个氨基酸组成, 其作用是使该酶定位到大多数细胞的细胞核^[2,10], 而该酶核/质分布也可能会调节其酶活性。大鼠肝脏 CCT α 的序列分析显示, 核定位信号可能由两个片段组成, 第一段是¹²RKRRK, 简称 N1; 第二段碱性序列,²⁴⁸KVKKKVK, 简称 N2, 类似于二分核定位序列^[9]。N1 和 N2 序列在大鼠^[11]、小鼠 (*Mus musculus*)^[12] 和 CHO K1 细胞^[13] 的 CCT α 中是保守的。在 CHO58 细胞中利用点突变敲除 N1 或 N2, 发现 N1 缺失可以改变 CCT α 的细胞核/质定位, 使 CCT α 大部分定位在细胞质中^[10], 而敲除 N2 对 CCT 的核质分布无显著影响。上述结果表明 N1 序列是 CCT α 核定位的重要信号。

CCT α 的催化结构域在进化上高度保守, 具有典型的 α/β 核苷酸结合折叠结构。该结构域催化 CTP 与磷酸胆碱之间的 CMP 基团转移反应生成 CDP-胆碱, 这一过程通过简单的亲核取代机制实现, 其中胺基环通过稳定 α -磷酸基团周围的电荷分布来促进反应进行^[14]。

CCT α 作为一种两向性的酶, 其与细胞膜的结合较弱且可逆, 且酶活性高度依赖于膜结合状态^[4,15]。该种调控机制源于其膜结合结构域 (M 结构域) 中的自抑制片段: 在未结合膜时, 该片段与催化结构域相互作用抑制酶活性; 在 PC 缺乏条件下, 细胞膜发生特征性物理变化 (如负电荷密度增加和脂质堆积压力升高) 时, M 结构域与膜结合并发生构象变化, 从而解除抑制并激活酶活性^[16-18]。

值得注意的是, P 结构域的磷酸化状态与 M 结构域的功能相互拮抗: 磷酸化会削弱 M 结构域的膜结合能力和 α -螺旋稳定性^[19]。可溶性 CCT α 的 P 结构域通常处于高度磷酸化状态, 而在膜结合时会发生特异性残基的去磷酸化^[20-22]。

2 哺乳动物中 CCT α 的功能

2.1 CCT α 在膜脂生成中的功能

CCT α 与磷脂合成 PC 是哺乳动物细胞膜、肺表面活性剂和脂蛋白的主要磷脂成分。富含 PC 的膜具有独特的表面电荷和堆积特性, 对细胞器生物发生、信号级联反应、细胞分裂和分泌至关重要。因此, 维持 PC 成分以保持细胞稳态非常重要^[23]。

PC 合成的一个重要调控特征是 CCT α 与膜结构的可逆结合。富含脂质激活剂的膜可使结构域 M 发生构象转换, 从而形成有利于插入膜疏水面的 α 螺旋结构^[24]。结构域 M 的膜感应功能使 CCT α 响应 CDP-胆碱途径中底物和产物的相对比例, 从而来调节 PC 的合成。CCT α 的核/质分布可能会调节酶活性。凭借 N 端核定位信号, CCT α 在许多细胞和组织中定位于核质中, 当被油酸盐或其他亲脂性激活剂刺激后, CCT α 会移位至内核膜、核质网或细胞质^[25-26]。细胞核 CCT α 可能有助于协调细胞周期中的 PC 合成和膜扩增。据推测, CCT α 在细胞核和细胞质之间穿梭以响应刺激信号, 且 PC 合成主要途径是由核外 CCT α 易位至 ER 后形成^[27]。

CCT α 与内质网 (ER) 当细胞发生分化或适应环境变化时, 会重塑并调整其细胞器的大小。细胞器体积的增大通常伴随着膜生物合成的增强, 而这一过程需要充足的脂质供应^[28]。ER 是真核生物中重要的膜性细胞器, 在蛋白质折叠和脂质合成中发挥关键作用^[29]。ER 体积根据细胞需求变化可显著改变。例如, 当 B 淋巴细胞分化为抗体分泌型浆细胞时 (发生 IgM 到 IgG 的转变), ER 会发生数倍扩张^[30]。在这些浆细胞中, 未折叠蛋白反应 (UPR) 会被激活, 并进一步激活 CCT α ^[31], 诱导脂肪酸和磷脂的合成^[32]。研究显示, 人工敲除 CCT α 损害浆细胞增殖和 UPR 激活, 同时抑制 IgM 到 IgG 的转变^[33], 显示 CCT α 在 ER 膜生物发生中的关键作用。

CCT α 与核质网 核包膜(NE)由与ER相邻的外膜和具有底层核基质的内膜组成, NE的合成和延伸依赖于脂质组成和相关蛋白质的多态性结构。研究表明, 在NE和ER上已经发现胆碱磷酸转移酶(CPT)催化CDP-胆碱途径的末端步骤^[34], 这表明NE可能是核CCT α 活化和膜易位后PC合成的主要位点。NE处的CCT α 除了调节磷脂合成来参与膜的形成, 还特异性的调节NE的内陷以形成核质网(NR)^[25]。

NR是一种与细胞信号转导和转运有关的核膜网络, 包括核孔复合物和小管核心内胞质成分的管腔蛋白^[35]。CCT α 结构域M与膜的结合介导CCT α 的活化, 这个过程和PC合成密切相关, 而PC合成参与NR小管的形成^[36]。NR中细胞质以及ER膜和管腔标志物的存在表明, 膜增殖所需的CDP-胆碱途径三种酶均定位在该位点。在油酸的刺激下, CCT α 被激活后转移至CDP-胆碱途径上其他两种酶发生作用的NR中, 从而导致PC的局部产生和NR膜的扩增。最近一项报道显示, 在油酸刺激下, CCT α 可被内核膜(INM)和NR中富集的磷脂酰丝氨酸(PS)活化, PS通过与其M结构域的互作, 引导CCT α 在油酸刺激下从核基质向INM和NR的转位过程, 并进一步促进核PC的形成^[37]。

2.2 CCT α 在脂滴生成与脂蛋白分泌中的作用

CCT α 与脂滴生成及聚合 脂滴(LDs)是中性脂质甘油三酯(TG)和甾醇酯的储存库, 其中性脂质核心被单层磷脂和相关蛋白质和酶包围^[38], 磷脂单层在哺乳动物细胞中含有50%~60%的PC和20%~30%的PE, 通过降低表面张力和提供弯曲弹性来稳定LDs。LDs的膨胀和收缩取决于核心中性脂质的合成和降解之间的平衡^[39]。在LDs膨胀过程中, 脂滴膜表面需要大量的PC以防止脂滴间的聚合^[40]。

CCT α 通过与LDs表面结合促进PC合成以适应中性脂质核心的膨胀来调节LDs的大小^[41]。PC对于稳定生长中的LDs并防止其聚结至关重要。在对黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)的研究表明, CCT α 定位于PC含量相对较低的处于生长中的LDs表面, 在油酸孵育的细胞中, LDs直径和表面积均增加^[42]。伴随着LDs增大, 其表面需要更多PC来防止LDs间的融合, 其表面会产生更多的CCT α 结合位点从而促进

CCT α 与膜的结合。CCT α 与LDs的表面结合后其活性被激活, 促使CDP-胆碱途径通量增加, 从而激发PC合成^[43]。CCT α 通过其两亲螺旋与LDs结合, 结合方式与该酶同膜的结合方式类似^[44-45]。在3T3-L1和Caco2细胞中敲除CCT α 降低了细胞中LDs的数量, 增加了LDs的大小, 证明CCT α 合成的PC有防止小LDs聚合的功能^[2]。与黑腹果蝇的研究结果相反, 油酸处理的哺乳动物细胞中, CCT α 并未从细胞核转移至LDs表面^[2]。在LDs生物发生过程中, 在核膜或细胞质膜上观察到内源性的CCT α , 证明该酶具有调节PC和LDs大小的功能。而哺乳动物和昆虫研究结果存在差异, 推测是由于物种之间LDs的磷脂组成存在差异, 但其具体机制还有待进一步探究。

CCT α 与脂蛋白分泌 脂蛋白主要由疏水性脂质核心(甘油三酯、胆固醇酯和亲脂性维生素等)的脂滴组成, 由单层磷脂和相关载脂蛋白包被。不同类别的脂蛋白在全身脂质代谢中起不同的作用。富含甘油三酯的乳糜微粒(CM)在小肠细胞中ApoB48的周围组装, 携带脂质^[46]。颗粒较小的极低密度脂蛋白(VLDL)含有ApoB100, 在肝细胞中产生^[47]。在正常生理条件下CACO2细胞主要分泌含ApoB100的VLDL, 但外源性脂肪酸孵育会刺激含有ApoB48的CM分泌^[48]。在对肝细胞靶向敲除CCT α 基因的小鼠研究中表明, CCT α 是小鼠分泌VLDL所必需的, 且CCT α 活性的缺失导致含有VLDL的ApoB分泌减少, 血浆高密度脂蛋白(HDL)和VLDL含量下降^[49], 并且CCT α 敲降小鼠肝细胞VLDL的组装和分泌有缺陷, 胆固醇和磷脂向HDL外流, 导致大量LDs的积累^[50]。此外, 敲除小鼠血浆HDL比对照组小鼠减少一半。上述结果表明, CCT α 对于血浆VLDL和HDL稳态至关重要, 且CDP-胆碱途径的损伤会改变肝脏和脂蛋白代谢^[49]。

3 哺乳动物CCT α 的调控

3.1 CCT α 的转录调控

CCT α 转录水平在各种细胞和组织中受到精密的调节。CCT α 的mRNA表达在肝脏再生^[51]、集落刺激因子1刺激的巨噬细胞^[52]和细胞周期^[53]中被显著激活。CCT α 在转录后受到

脂代谢相关转录因子的调节。有研究表明, 在甾醇调节缺陷细胞中, 甾醇调节元件结合蛋白在甾醇耗尽条件下弱诱导 CCT α 的转录^[54], 这一过程可能是通过诱导脂肪酸合成实现的。而其他脂质代谢相关转录因子如肝脏 X 受体、过氧化物酶体增殖物激活受体等能否直接转录调控 CCT α 尚未见报道。小鼠 CCT α 启动子缺乏 TATA 盒, 包含富含 GC 的区域, 含有视网膜母细胞瘤 (Rb)、Sp1、Sp3、Est-1 和 TEF-4 结合元件^[55]。研究表明, Ets-1、Sp1 和 TEF-4 在几种细胞系中协同调控 CCT α 转录。Ets-1 似乎在组织 (例如胚胎、血管生成和癌症) 的快速增殖中发挥作用, TEF-4 可能是在胚胎发育过程中增强 CCT α 转录所必需的, 这是 PC 生物合成的先决条件^[55]。

3.2 CCT α 的磷酸化调控

关于磷酸酶和激酶抑制剂的早期研究表明, 去磷酸化促进 CCT α 膜易位和 PC 合成。油酸^[21] 或磷脂酶 C^[20] 诱导的 CCT α 的膜易位伴随着 CCT α 的去磷酸化, 从而控制酶活性和膜结合。当磷酸酶抑制剂阻断去磷酸化时, CCT α 仍留在胞质溶胶中^[20]。在一些细胞中, PC 合成的变化与 CCT α 的磷酸化状态改变有关, 但酶的膜/细胞质分布未检测到变化^[56]。

CCT α 蛋白的 P 结构域高度富集丝氨酸-脯氨酸基序, 因此是脯氨酸定向激酶的候选底物, 如细胞周期蛋白依赖性激酶和丝裂原活化蛋白激酶。在表达活化 Ras 的细胞中, 脯氨酸定向激酶抑制剂可降低 CCT α 磷酸化程度^[57]。CCT α 含量的升高也与氧甾醇/维甲酸抑制小鼠肺上皮细胞中 PC 合成有关, 细胞外信号调节激酶 (ERK1/2) 抑制剂或用显性负性质粒转染的 ERK 可降低 CCT α 的磷酸化并阻止 PC 合成^[58]。氧甾醇/维甲酸对 PC 合成的抑制取决于 CCT α 中的 Ser-315, 这是一种潜在的 ERK 磷酸化位点, 先前已被证明可以调节 CCT α 对膜的亲和力^[59]。另一项研究使用血管紧张素处理的成纤维细胞, 血管紧张素通过 ERK1/2 途径激活 CCT α 并促使 PC 合成, 但未检测到 CCT 磷酸化状态的变化^[60]。CCT α 的磷酸化状态在细胞周期中周期性波动, 在 G1 早期, 即 PC 合成和周转旺盛的时期, CCT α 在巨噬细胞和成纤维细胞^[38] 中磷酸化程度较低。在 G1 晚期, 巨噬细胞中的 CCT α 磷酸化水平提高, 活性降低^[61]。且该磷酸化水

平改变与成纤维细胞的细胞周期进程中膜亲和力的变化相关联^[27]。将 CCT α 的磷酸丝氨酸位点转化为谷氨酸即可维持 CCT α 与膜的结合能力, 且这种 CCT 变体有效地降低了 CHO MT-58 细胞的凋亡水平^[23]。

3.3 CCT α 的半胱氨酸修饰

由于脂质会引起与 CCT α 酶活性增加相关的二聚体酶构象发生明显变化, 因此 CCT α 的四级结构成为相关研究的关注点。在 CCT α 的可溶性形式下, 两个位于氨基末端域内的 Cys37 残基距离小于二硫键的长度, 但在与激活性脂质结合后, Cys37 残基发生轻微位移, 导致其在 CCT α 脂质结合二聚体中的距离增加^[62]。研究表明, 过氧化物酶体增殖物激活受体 (PPAR) 配体 15d-PGJ2 通过在 Cys37-Cys37 处的交联桥来抑制 CCT α 活性, 并且 N-乙酰半胱氨酸 (与 CCT α 半胱氨酸竞争) 有效阻断了 15d-PGJ2 引起的交联和 CCT α 活性的抑制^[63]。

4 鱼类 CCT α 的研究进展

目前鱼类中关于 CCT α 的研究较少, 主要集中在基因克隆以及其生长过程中的表达变化等方面。课题组之前的研究克隆了大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) CCT α 基因, 发现其氨基酸序列与斑马鱼 (*Danio rerio*)、大西洋鲑 (*Salmo salar*) 和半滑舌鳎 (*Cynoglossus semilaevis*) CCT α 的氨基酸序列具有极高的同源性^[64]。进一步检测其时空表达变化发现, 大黄鱼稚鱼 CCT α 的表达量随日龄的变化先显著升高, 在 15 日龄时达到最大值, 随后显著下降并趋于平稳, CCT α 基因表达量的变化趋势与大黄鱼稚鱼消化系统的发育密切相关。在大黄鱼肝细胞的研究中, 随 CCT α 敲低, 原代肝细胞中脂质合成和氧化相关基因的表达降低, 提高了脂质转运相关基因表达, 且干扰 CCT α 显著提高了细胞中甘油三酯的含量, 表明 CCT α 参与肝脏脂代谢进程^[65]。这一研究与哺乳动物中 CCT α 参与脂蛋白转运的研究结果相同。但其参加肝脏脂代谢的具体机制还需进一步探究。在黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 的研究中发现, 饲喂高脂饲料导致肝脏 CCT α 蛋白水平下调, 而外源补充胆碱会提高 CCT α 蛋白表达, 表明胆碱改善了高脂破坏的黄颡鱼肝脏胆碱代谢^[66]。

综上, CCT α 作为脂质代谢中的重要调控因子, 未来可作为一个潜在靶点, 研究其在脂质代谢中的作用, 为缓解高脂或高比例植物油替代鱼油所导致的脂肪异常沉积提供营养学策略。

参考文献 (References):

- [1] Kennedy E P, Weiss S B. The function of cytidine coenzymes in the biosynthesis of phospholipides[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1956, 222(1): 193-214.
- [2] Aitchison A J, Arsénault D J, Ridgway N D. Nuclear-localized CTP: phosphocholine cytidyltransferase α regulates phosphatidylcholine synthesis required for lipid droplet biogenesis[J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2015, 26(16): 2927-2938.
- [3] Morita S Y, Ikeda Y. Regulation of membrane phospholipid biosynthesis in mammalian cells[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2022, 206: 115296.
- [4] Cornell R B, Northwood I C. Regulation of CTP: phosphocholine cytidyltransferase by amphitropism and relocalization[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2000, 25(9): 441-447.
- [5] Cornell R B, Ridgway N D. CTP: phosphocholine cytidyltransferase: function, regulation, and structure of an amphitropic enzyme required for membrane biogenesis[J]. *Progress in Lipid Research*, 2015, 59: 147-171.
- [6] Haider A, Wei Y C, Lim K, *et al.* PCYT1A regulates phosphatidylcholine homeostasis from the inner nuclear membrane in response to membrane stored curvature elastic stress[J]. *Developmental Cell*, 2018, 45(4): 481-495.
- [7] Lykidis A, Baburina I, Jackowski S. Distribution of CTP: phosphocholine cytidyltransferase (CCT) isoforms: identification of a new CCT β splice variant[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274(38): 26992-27001.
- [8] Taneva S, Dennis M K, Ding Z W, *et al.* Contribution of each membrane binding domain of the CTP: phosphocholine cytidyltransferase- α dimer to its activation, membrane binding, and membrane cross-bridging[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283(42): 28137-28148.
- [9] Dingwall C, Laskey R A. Nuclear targeting sequences-a consensus?[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 1991, 16: 478-481.
- [10] Wang Y L, Macdonald J I S, Kent C. Identification of the nuclear localization signal of rat liver CTP: phosphocholine cytidyltransferase[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1995, 270(1): 354-360.
- [11] Kalmar G B, Kay R J, Lachance A, *et al.* Cloning and expression of rat liver CTP: phosphocholine cytidyltransferase: an amphipathic protein that controls phosphatidylcholine synthesis[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1990, 87(16): 6029-6033.
- [12] Rutherford M S, Rock C O, Jenkins N A, *et al.* The gene for murine CTP: phosphocholine cytidyltransferase (*Ctpct*) is located on mouse chromosome 16[J]. *Genomics*, 1993, 18(3): 698-701.
- [13] Wang Y L, Sweitzer T D, Weinhold P A, *et al.* Nuclear localization of soluble CTP: phosphocholine cytidyltransferase[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268(8): 5899-5904.
- [14] Helmink B A, Braker J D, Kent C, *et al.* Identification of lysine 122 and arginine 196 as important functional residues of rat CTP: phosphocholine cytidyltransferase alpha[J]. *Biochemistry*, 2003, 42(17): 5043-5051.
- [15] Johnson J E, Cornell R B. Amphitropic proteins: regulation by reversible membrane interactions (review)[J]. *Molecular Membrane Biology*, 1999, 16(3): 217-235.
- [16] Arnold R S, Cornell R B. Lipid regulation of CTP:phosphocholine cytidyltransferase: electrostatic, hydrophobic, and synergistic interactions of anionic phospholipids and diacylglycerol[J]. *Biochemistry*, 1996, 35(30): 9917-9924.
- [17] Davies S M A, Epand R M, Kraayenhof R, *et al.* Regulation of CTP: phosphocholine cytidyltransferase activity by the physical properties of lipid membranes: an important role for stored curvature strain energy[J]. *Biochemistry*, 2001, 40(35): 10522-10531.
- [18] Johnson J E, Xie M T, Singh L M R, *et al.* Both acidic and basic amino acids in an amphitropic enzyme, CTP: phosphocholine cytidyltransferase, dictate its selectivity for anionic membranes[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(1): 514-522.
- [19] Chong S S Y, Taneva S G, Lee J M C, *et al.* The curvature sensitivity of a membrane-binding amphipathic helix can be modulated by the charge on a flanking region[J]. *Biochemistry*, 2014, 53(3): 450-461.
- [20] Watkins J D, Kent C. Regulation of CTP: phosphocholine cytidyltransferase activity and subcellular location by phosphorylation in Chinese hamster ovary cells. The effect of phospholipase c treatment[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1991, 266(31): 21113-21117.
- [21] Wang Y L, MacDonald J I S, Kent C. Regulation of CTP: phosphocholine cytidyltransferase in hela cells. Effect of oleate on phosphorylation and intracellular localization[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268(8): 5512-5518.
- [22] Houweling M, Jamil H, Hatch G M, *et al.* Dephosphorylation of CTP-phosphocholine cytidyltransferase is not required for binding to membranes[J]. *Journal of Biological Chemistry*,

- 1994, 269(10): 7544-7551.
- [23] Lagace T A, Ridgway N D. The role of phospholipids in the biological activity and structure of the endoplasmic reticulum[J]. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 2013, 1833(11): 2499-2510.
- [24] Taneva S, Johnson J E, Cornell R B. Lipid-induced conformational switch in the membrane binding domain of CTP: phosphocholine cytidyltransferase: a circular dichroism study[J]. *Biochemistry*, 2003, 42(40): 11768-11776.
- [25] Lagace T A, Ridgway N D. The rate-limiting enzyme in phosphatidylcholine synthesis regulates proliferation of the nucleoplasmic reticulum[J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2005, 16(3): 1120-1130.
- [26] Gehrig K, Morton C C, Ridgway N D. Nuclear export of the rate-limiting enzyme in phosphatidylcholine synthesis is mediated by its membrane binding domain[J]. *Journal of Lipid Research*, 2009, 50(5): 966-976.
- [27] Northwood I C, Tong A H Y, Crawford B, *et al.* Shuttling of CTP: phosphocholine cytidyltransferase between the nucleus and endoplasmic reticulum accompanies the wave of phosphatidylcholine synthesis during the $G_0 \rightarrow G_1$ transition[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274(37): 26240-26248.
- [28] Cornell R B, Ridgway N D. CTP: phosphocholine cytidyltransferase: function, regulation, and structure of an amphitropic enzyme required for membrane biogenesis[J]. *Progress in Lipid Research*, 2015, 59: 147-171.
- [29] Westrate L M, Lee J E, Prinz W A, *et al.* Form follows function: the importance of endoplasmic reticulum shape[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 2015, 84: 791-811.
- [30] Wiest D L, Burkhardt J K, Hester S, *et al.* Membrane biogenesis during B cell differentiation: most endoplasmic reticulum proteins are expressed coordinately[J]. *The Journal of Cell Biology*, 1990, 110(5): 1501-1511.
- [31] Sriburi R, Bommiasamy H, Buldak G L, *et al.* Coordinate regulation of phospholipid biosynthesis and secretory pathway gene expression in XBP-1(S)-induced endoplasmic reticulum biogenesis[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282(10): 7024-7034.
- [32] Fagone P, Sriburi R, Ward-Chapman C, *et al.* Phospholipid biosynthesis program underlying membrane expansion during B-lymphocyte differentiation[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282(10): 7591-7605.
- [33] Fagone P, Gunter C, Sage C R, *et al.* CTP: phosphocholine cytidyltransferase α is required for b-cell proliferation and class switch recombination[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(11): 6847-6854.
- [34] Henneberry A L, Wright M M, McMaster C R. The major sites of cellular phospholipid synthesis and molecular determinants of fatty acid and lipid head group specificity[J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2002, 13(9): 3148-3161.
- [35] Johnson N, Krebs M, Boudreau R, *et al.* Actin-filled nuclear invaginations indicate degree of cell de-differentiation[J]. *Differentiation*, 2003, 71(7): 414-424.
- [36] Gehrig K, Cornell R B, Ridgway N D. Expansion of the nucleoplasmic reticulum requires the coordinated activity of lamins and CTP:phosphocholine cytidyltransferase α [J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2008, 19(1): 237-247.
- [37] Niu Y, Pemberton J G, Kim Y J, *et al.* Phosphatidylserine enrichment in the nuclear membrane regulates key enzymes of phosphatidylcholine synthesis[J]. *The EMBO Journal*, 2024, 43(16): 3414-3449.
- [38] Pol A, Gross S P, Parton R G. Biogenesis of the multifunctional lipid droplet: lipids, proteins, and sites[J]. *Journal of Cell Biology*, 2014, 204(5): 635-646.
- [39] Wilfling F, Haas J T, Walther T C, *et al.* Lipid droplet biogenesis[J]. *Current Opinion in Cell Biology*, 2014, 29: 39-45.
- [40] Guo Y, Walther T C, Rao M, *et al.* Functional genomic screen reveals genes involved in lipid-droplet formation and utilization[J]. *Nature*, 2008, 453(7195): 657-661.
- [41] Brasaemle D L. Dissecting phospholipid function in lipid droplet dynamics[J]. *Cell Metabolism*, 2011, 14(4): 437-438.
- [42] Krahmer N, Guo Y, Wilfling F, *et al.* Phosphatidylcholine synthesis for lipid droplet expansion is mediated by localized activation of CTP: phosphocholine cytidyltransferase[J]. *Cell Metabolism*, 2011, 14(4): 504-515.
- [43] Vance D E, Trip E M, Paddon H B. Poliovirus increases phosphatidylcholine biosynthesis in HeLa cells by stimulation of the rate-limiting reaction catalyzed by CTP: phosphocholine cytidyltransferase[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1980, 255(3): 1064-1069.
- [44] Feldman D A, Rounsifer M E, Weinhold P A. The stimulation and binding of CTP: phosphorylcholine cytidyltransferase by phosphatidylcholine-oleic acid vesicles[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism*, 1985, 833(3): 429-437.
- [45] Cornell R, Vance D E. Binding of CTP:phosphocholine cytidyltransferase to large unilamellar vesicles[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism*, 1987, 919(1): 37-48.
- [46] Dash S, Xiao C T, Morgantini C, *et al.* New insights into the regulation of chylomicron production[J]. *Annual Review of Nutrition*, 2015, 35: 265-294.

- [47] Choi S H, Ginsberg H N. Increased very low density lipoprotein (VLDL) secretion, hepatic steatosis, and insulin resistance[J]. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 2011, 22(9): 353-363.
- [48] Chateau D, Pauquai T, Delers F, *et al.* Lipid micelles stimulate the secretion of triglyceride-enriched apolipoprotein B48-containing lipoproteins by Caco-2 cells[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2005, 202(3): 767-776.
- [49] Jacobs R L, Devlin C, Tabas I, *et al.* Targeted deletion of hepatic CTP: phosphocholine cytidyltransferase α in mice decreases plasma high density and very low density lipoproteins[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(45): 47402-47410.
- [50] Jacobs R L, Lingrell S, Zhao Y, *et al.* Hepatic CTP: phosphocholine cytidyltransferase- α is a critical predictor of plasma high density lipoprotein and very low density lipoprotein[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283(4): 2147-2155.
- [51] Houweling M, Cui Z, Tessitore L, *et al.* Induction of hepatocyte proliferation after partial hepatectomy is accompanied by a markedly reduced expression of phosphatidylethanolamine *N*-methyltransferase-2[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism*, 1997, 1346(1): 1-9.
- [52] Tessner T G, Rock C O, Kalmar G B, *et al.* Colony-stimulating factor 1 regulates CTP: phosphocholine cytidyltransferase mRNA levels[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1991, 266(25): 16261-16264.
- [53] Golfman L S, Bakovic M, Vance D E. Transcription of the CTP: phosphocholine cytidyltransferase α gene is enhanced during the S phase of the cell cycle[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(47): 43688-43692.
- [54] Mallampalli R K, Ryan A J, Carroll J L, *et al.* Lipid deprivation increases surfactant phosphatidylcholine synthesis via a sterol-sensitive regulatory element within the CTP: phosphocholine cytidyltransferase promoter[J]. *Biochemical Journal*, 2002, 362(1): 81-88.
- [55] Sugimoto H, Banchio C, Vance D E. Transcriptional regulation of phosphatidylcholine biosynthesis[J]. *Progress in Lipid Research*, 2008, 47(3): 204-220.
- [56] Macdonald J I S, Possmayer F. Stimulation of phosphatidylcholine biosynthesis in mouse MLE-12 type-II cells by conditioned medium from cortisol-treated rat fetal lung fibroblasts[J]. *Biochemical Journal*, 1995, 312(2): 425-431.
- [57] Wieprecht M, Wieder T, Paul C, *et al.* Evidence for phosphorylation of CTP: phosphocholine cytidyltransferase by multiple proline-directed protein kinases[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1996, 271(17): 9955-9961.
- [58] Agassandian M, Zhou J M, Tephly L A, *et al.* Oxysterols inhibit phosphatidylcholine synthesis via ERK docking and phosphorylation of CTP: phosphocholine cytidyltransferase[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280(22): 21577-21587.
- [59] Yang W N, Jackowski S. Lipid activation of CTP: phosphocholine cytidyltransferase is regulated by the phosphorylated carboxyl-terminal domain[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1995, 270(28): 16503-16506.
- [60] Kitos T E, Choi C M Y, Cornell R B. Angiotensin stimulates phosphatidylcholine synthesis via a pathway involving diacylglycerol, protein kinase C, ERK1/2, and CTP: phosphocholine cytidyltransferase[J]. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2006, 1761(2): 272-279.
- [61] Jackowski S. Coordination of membrane phospholipid synthesis with the cell cycle[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1994, 269(5): 3858-3867.
- [62] Xie M T, Smith J L, Ding Z W, *et al.* Membrane binding modulates the quaternary structure of CTP: phosphocholine cytidyltransferase[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(27): 28817-28825.
- [63] Ryan A J, Chen B B, Vennalaganti P R, *et al.* 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J_2 impairs phosphatidylcholine synthesis and induces nuclear accumulation of thiol-modified cytidyltransferase[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283(36): 24628-24640.
- [64] 冯硕恒, 蔡佐楠, 麦康森, 等. 大黄鱼 CCT α 基因的克隆及其表达量随稚鱼生长发育的变化 [J]. *水生生物学报*, 2016, 40(4): 752-757.
- Feng S H, Cai Z N, Mai K S, *et al.* Molecular cloning and genetic ontogeny of CCT α during the development of large yellow croaker larvae (*Larimichthys crocea*)[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2016, 40(4): 752-757 (in Chinese).
- [65] Cai Z N, Mai K S, Ai Q H. Regulation of hepatic lipid deposition by phospholipid in large yellow croaker[J]. *British Journal of Nutrition*, 2017, 118(12): 999-1009.
- [66] Zheng H, Zhao T, Xu Y C, *et al.* Dietary choline prevents high fat-induced disorder of hepatic cholesterol metabolism through SREBP-2/HNF-4 α /CYP7A1 pathway in a freshwater teleost yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms*, 2022, 1865(7): 194874.

CTP: phosphocholine cytidyltransferase alpha (CCT α) - advances on its role and regulation in membrane lipid biogenesis and lipid metabolism

AI Qinghui ^{1,2*}, ZHAN Rui ¹

1. Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education,
Key Laboratory of Aquaculture Nutrition and Feed, Ministry of Agriculture and Rural Affairs,
Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes,
Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266237, China

Abstract: Phosphatidylcholine (PC) is a major component of membrane phospholipids and plays essential biological roles. The primary pathway for PC synthesis is the CDP-choline pathway, in which CTP: phosphocholine cytidyltransferase (CCT) functions as the rate-limiting enzyme and is a key factor in maintaining PC homeostasis. CCT α , one of the major isoforms of the CCT family, is widely distributed across mammalian organs and tissues, and plays crucial roles in membrane biogenesis and lipid metabolism. Recent studies have shown that CCT α is also present in fish and exerts important regulatory functions in fish lipid metabolism. This review summarizes the functions and regulatory mechanisms of CCT α in both mammals and fish, with a focus on its roles in membrane biogenesis and lipid metabolism. Additionally, the potential of CCT α as a molecular target for regulating nutritional metabolic disorders in fish is explored, aiming to provide theoretical implications for the healthy development of aquaculture.

Key words: CTP: choline-phosphate cytidyltransferase α (CCT α); phosphatidylcholine; membrane lipid biosynthesis; lipid metabolism

Corresponding author: AI Qinghui. E-mail: qhai@ouc.edu.cn

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31830103, U2106232); China Agriculture Research System of MOF and MARA (CARS-47-11)