

赖氨酰氧化酶与人类疾病*

张艳君¹⁾ 蒋稼欢¹⁾ 谢静¹⁾ 杨力¹⁾ 宋国立^{1, 2)**}

¹⁾ “生物流变科学与技术”教育部重点实验室(重庆大学), 重庆大学生物工程学院, 重庆 400044;

²⁾ *Departments of Orthopedics and Bioengineering, University of California at San Diego, La Jolla, CA 92093, USA*

摘要 赖氨酰氧化酶(lysyl oxidases, LOXs)是一种能够催化细胞外基质蛋白(如胶原和弹性蛋白)交叉连接的酶类, 这一功能使其在组织的稳定、重塑和伤口愈合中发挥重要作用. 随着研究的不断深入, LOXs 在细胞增殖、细胞趋化以及肿瘤发生等过程中也彰显出十分关键的作用. 研究发现, 一些诸如结缔组织病、剥脱综合症、铜代谢障碍性疾病及盆腔器官脱垂和骨疾等疾病的发生与 LOXs 有很大关系. 综述了 LOXs 的生物合成、结构特点、多功能性以及与人类疾病的关系.

关键词 赖氨酰氧化酶, 细胞外基质, 交叉连接, 重塑, 伤口愈合

学科分类号 Q291, Q55

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2010.00468

自从 1968 年, 一种被称为赖氨酰氧化酶(lysyl oxidase, LOX)的分泌性酶活性被首次公布后, 便引起了科学界对这种酶的极大兴趣. 到目前为止, 科学界已鉴定了 4 个人赖氨酰氧化酶样蛋白, 分别是赖氨酰氧化酶样蛋白 1 (human lysyl oxidase-like1, hLOXL1)、赖氨酰氧化酶样蛋白 2 (human lysyl oxidase-like2, hLOXL2)、赖氨酰氧化酶样蛋白 3 (human lysyl oxidase-like3, hLOXL3)和赖氨酰氧化酶样蛋白 4 (human lysyl oxidase-like4, hLOXL4), 从而建立了含有 5 个成员的 LOX 基因家族. LOXs 是一种存在于哺乳动物中的铜依赖性氨基酸氧化酶, 此酶能够催化细胞外基质蛋白, 如胶原和弹性蛋白中赖氨酸残基 ϵ -氨基的氧化脱氨, 产生的醛基通过 Schiff's 碱的形成或者丁醛醇的缩合反应形成分子内和分子间共价交叉连接, 这种交叉连接将胶原和弹性蛋白的可溶性单体转变为细胞外基质中稳定性较强的不溶性纤维, 此功能对于发育和组织修复具有重要作用^[1]. 越来越多的证据表明, LOXs 不仅定位于细胞外, 还定位于细胞质和细胞核内, 它们不仅合成细胞外基质, 还具有影响细胞增殖和细胞趋化以及抑制或者促进肿瘤形成等功能^[1-2]. 更为重要的是 LOXs 在诸如结缔组织病、剥脱综合症、铜代谢障碍性疾病及盆腔器官脱垂和骨疾等疾病发生和发展中也发挥重要作用, 可能成

为治疗以上疾病的有效靶点.

1 LOXs 的生物合成

LOX 基因在细胞内经过转录和翻译生成分子质量为 46 ku 的前酶原, 接着在内质网和高尔基体内进行了信号肽切除和 N 端糖基化后生成无酶活性的 50 ku LOX 酶原并分泌到细胞外, 前胶原 C-蛋白激酶(procollagen C-proteinase, PCP)在这一酶原的 Gly¹⁶⁸ 和 Asp¹⁶⁹ 间剪切加工, 产生具有酶活性的 32 ku 功能性酶和一段 18 ku 的 LOX 前肽(lox-propeptide, LOX-PP). PCP 也称为骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein-1, BMP-1), 也可移去前胶原 I-III 的 C 端前肽^[3]. BMP-1 是骨形态发生蛋白(Bmp1)基因编码的产物, Bmp1 基因经过选择性剪切编码的另一种骨形态发生蛋白酶家族成员称为哺乳动物特洛德样(mammalian Tolloid, mTLD)蛋白. 与 BMP-1 相比, mTLD 蛋白要长于

* “111 计划”资助项目(B06023), 重庆市科技攻关计划资助项目(CSTC, 20085129).

** 通讯联系人.

Tel: 13647643300, E-mail: sungk12@cqu.edu.cn

收稿日期: 2010-09-09, 接受日期: 2010-12-02

BMP-1, 并且 mTLD 蛋白含有两段 CUB(complement subcomponents C1r/C1s, Uegf, and Bmpl1)区域和一段表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)区域. 这些区域除了具有调节蛋白酶活性的作用, 还能为其他细胞外基质成分提供结合位点. 2001 年, Uzel 等^[3]第一次比较了哺乳动物骨形态发生蛋白酶家族中 4 个成员(BMP-1、mTLD、mTLL-1 和 mTLL-2)对 LOX 酶原的剪切加工作用, 发现 4 个成员都具有剪切加工 LOX 酶原的作用, BMP-1 的剪切加工效率分别是 mTLL-1、mTLL-2 和 mTLD 的 3 倍、15 倍和 20 倍, 也就是说 BMP-1 具有最高的 PCP 活性, 并且是效率最高的 LOX 酶原加工酶. 由于 BMP-1 对前胶原与 LOX 酶原的高效加工过程, 说明交叉连接的胶原纤维形成机制是高度集成的.

Fogelgren 等研究指出, LOX 酶原因蛋白水解作用而产生功能性酶这一过程发生在人成纤维细胞表面, 并且纤连蛋白(fibronectin, FN)与骨膜蛋白(periostin, PN)参与了酶原蛋白水解这一过程. FN 是一种细胞外基质糖蛋白, 它能够调节细胞的多种功能, 如增殖、分化、迁移、黏附和凋亡. Fogelgren 将成熟的 30 ku 的 LOX 作为诱饵蛋白, 利用酵母双杂合系统检测出 FN 与 LOX 相互结合在体外形成紧密复合物. 此外, 当小鼠胚胎成纤维细胞中 FN 基因被敲除后, LOX 酶原的蛋白水解大大减少, 并且 LOX 活性也有所降低, 但 BMP 的含量却无变化, 说明 LOX 活化水平的降低与 BMP 水平减少无关, FN 在 LOX 活化过程中起着重要作用^[4]. PN 是由致密结缔组织分泌的一种相对分子质量约 9×10^4 的高分子糖蛋白, 最初在鼠成骨细胞中发现而命名为成骨细胞特异因子-2(osteoblast-specific factor-2), 具有调节成骨细胞黏附、分化和促进肿瘤侵袭转移的功能^[5]. 最新研究发现, PN 与 BMP-1 的相互作用增强了 BMP-1 在细胞外基质的定位, 促进 LOX 酶原的蛋白水解, 这一结论揭示了过去研究中关于 PN 基因敲除的小鼠股骨、骨膜、心肌和肌腱中胶原交叉连接减少的原因^[6].

2 LOXs 的结构

LOX 基因家族成员中每一个全基因产物序列都包含有一段 N 端信号肽区域, 紧接一段序列和长度因成员不同而变化的 PP 区域以及 C 端催化性区域. LOXL2、LOXL3 和 LOXL4 的 PP 区包含有 4 个清道夫受体半胱氨酸富集区(SRCR), 相反

LOX 和 LOXL1 的 PP 区却不含有半胱氨酸位点. 当信号肽在细胞中被切除后, LOX 和 LOXL1 就会以各自的酶原形式(proLOX 和 proLOXL1)分泌到细胞外, 进一步经过 BMP 蛋白水解作用释放出 N 端 PP 区域和 C 端催化性区域. 清道夫受体半胱氨酸超家族主要由大量的细胞表面蛋白构成, 因此有人认为清道夫受体半胱氨酸区域通过参与蛋白质与蛋白质之间的相互作用来调节细胞黏附和细胞信号转导^[1].

2.1 前肽(propeptide, PP)

蛋白质复杂的组成和结构是其多种多样生物学功能的基础, 而蛋白质独特的性质和功能则是其结构的反映. PP 区域也不例外, 它具有的各种性质及生物学功能与自身结构存在一定关系.

在不使用强变性剂和离液剂的情况下, LOX 是很难从细胞外基质中抽提出来的, 而 LOX 酶原却很容易从组织中抽提出来. 因此有研究者认为, PP 不仅影响 LOX 酶原催化区域的活性, 而且还改变此酶成熟形式的物理性质, 以至于当 LOX 酶原经过蛋白质水解作用释放出 PP 后, 处于成熟状态的 LOX 很难与底物分离, 说明 PP 在调节此酶溶解性方面起着重要作用^[7]. LOX-PP 对小鼠胚胎成骨细胞中 FGF-2 诱导的 DNA 合成具有抑制作用, 当 PP 被预热到 90°C 时, 仍然对 FGF-2 诱导的 DNA 合成具有抑制作用, 说明 PP 具有高的热稳定性. 当剔除了 LOX 蛋白表达构建体中的 PP 区域后, 胞外分泌的 LOX 大大减少. 以上现象的发生与 PP 区域含有的 N-糖基化位点和 O-糖基化位点有关, 由于糖类是亲水性的, 且能够提高蛋白质的热稳定性和动力稳定性, 阻止蛋白质沉淀, 增强蛋白质溶解能力. 有研究发现, 糖基团还可作为标签将蛋白质运送到它们的亚细胞区室, 一旦去除这些糖基, 蛋白质就会通过“质量监控”机制而被滞留在内质网中, 这解释了缺乏 PP 区域会降低 LOX 胞外分泌能力的原因^[8].

研究人员在研究 PP 对成骨细胞增殖和分化的作用中, 发现 PP 在成骨细胞中的分布具有发育阶段依赖性, 即: 当成骨细胞处于增殖期时, PP 主要定位于细胞核边缘区域的高尔基体和内质网内; 当成骨细胞处于分化期时, PP 通过与带负电荷的微管的静电相互作用定位于微管中^[9]. 这说明 PP 在细胞内具有一定功能. 目前认为胞外 PP 进入胞内主要与 PP 的碱性性质有关. PP 区域由于富含精氨酸而呈阴性, 据估计在小鼠、大鼠以及人体内,

其等电点为 12.5. 由于细胞膜对富含精氨酸的碱性蛋白质具有可渗透性, 因此可以认为 PP 区域的强碱性特征有利于它在没有特异性受体存在的条件下, 通过硫酸乙酰肝素糖蛋白的调节被细胞吸收, 而在细胞内发挥生物学功能.

Horiguchi 等^[10]研究结果指出, 腓骨蛋白-4 (fibulin-4) 通过与 PP 相互作用将酶原形式的 LOX 与原弹性蛋白结合, 促进弹性纤维形成, 说明 PP 具有底物识别作用. Palamakumbura 等^[11]的研究第一次指出 LOX-PP 具有肿瘤抑制功能, 它可以抑制 ras 依赖性信号通路中 Erk1/2 Map 激酶的活性, 从而达到抑制细胞转化的目的, 并且得出 LOX-PP 通过抑制 FGF-2 与前列腺癌细胞表面 FGF-2 受体的结合来抑制 FGF-2 对细胞的增殖作用^[12]. Hurtado 等^[13]在研究动脉粥样硬化发生过程中发现, LOX-PP 还可以通过抑制 MEK/Erk 酶来抑制平滑肌细胞增殖和肿瘤坏死因子(TNF- α)诱导的 MMP-9 的产生. LOX-PP 功能的多样性与其自身结构特征分不开, PP 区域含有少量大的疏水氨基酸残基(Ile、Leu、Val)和芳香氨基酸残基(Trp、Tyr、Phe), 相反, 却含有大量的占整个 PP 氨基酸组成 70% 的极性氨基酸残基(Arg、Gln、Ser、Glu)和创建蛋白质结构连接的氨基酸残基(Gly、Pro). 这些氨基酸残基的存在使 PP 成为自身紊乱蛋白(inherently disordered proteins, IDPs), IDPs 自身的灵活性易使其局部结构和整体结构受到结合配偶体的影响而发挥自身功能. 也就是说, IDPs 大的捕捉半径使其具有功能多样性^[8].

2.2 C 端的催化性区域

LOX 家族每一个成员的 C 端催化性区域都含有高度保守的铜离子结合位点、赖氨酸酪氨酸残基(lysine tyrosylquinone, LTQ)和细胞因子受体区域(cytokine receptor-like domain, CRL)^[14].

由于 LOXs 难以纯化且溶解能力低, 因此人们对铜离子结合位点结构特征的了解相对欠缺. 研究者运用 X-波段电子顺磁共振光谱分析得出, 铜离子结合位点中 3 个氮原子相互配合与铜离子结合, 这一铜离子结合位点结构与 X 射线晶体分析的其他氨基酸氧化酶中的铜离子结合位点结构相似. Trackman 等研究得出组氨酸富集区是铜离子结合区域, Krebs 和 Krawetz 进一步研究指出 4 个组氨酸(His 289、292、294 和 296)中的 3 个组氨酸彼此相互作用作为铜离子配体, 第 4 个组氨酸作为一般催化基团. 然而 Greenaway 的研究指出这一结构不

符合低能量结构. Ryvkin 等^[14]选取两条人工合成的含有 24 个和 34 个氨基酸残基的肽链, 运用光谱技术, 如核磁共振(NMR)、电子顺磁共振(electron paramagnetic resonance, EPR)、圆二色(circular dichroism, CD)光谱、可见吸收光谱(visible absorption spectra)和荧光光谱(fluorescence spectroscopy)研究两条肽链的铜离子结合位点的结构, 得出: 在中性 pH 条件下, 3 个组氨酸咪唑氮原子与一个羧基氧原子配位成为铜离子的平面配体, 从而形成一个四边形扭曲的八面体.

LTQ 是通过 LOX 中的赖氨酸和酪氨酸位点的自我催化过程形成的. 首先, 与 LOX 结合的铜离子将肽链中的酪氨酸氧化为二羟苯丙氨酸醌(多巴醌), 接着受到吸引的赖氨酸位点上的 ϵ -氨基与醌环共价结合形成 LTQ. 对大鼠和人的 LOX 的氨基酸序列研究发现: 构成赖氨酸酪氨酸醌(LTQ)位点的赖氨酸和酪氨酸所在的两个序列区域富含阴离子氨基酸, 当赖氨酸和酪氨酸通过共价交叉连接形成 LTQ 时, 这两个序列区域共同作用, 为活性区域局部提供了大量的负电荷位点. 这就解释了 LOX 不仅氧化弹性蛋白的可溶性前体和胶原未成熟的原纤维形式, 还能氧化大量等电点值大于等于 8 的碱性球形蛋白和 H1 组蛋白肽链中的赖氨酸以及一些非肽类氨基底物(如: 正丁胺, 1, 5-戊二胺)的原因^[1].

3 LOXs 的作用

3.1 LOXs 在发育中的作用

剔除了 LOX 基因的小鼠出生一会儿就死去了, 这是由于 LOX 的缺乏减少了胶原和弹性蛋白的交叉连接, 从而削弱了血管和隔膜的力学强度, 导致小鼠在出生时无法承受外界施加在血管床和隔膜上的一些更强的应力刺激, 如: 小鼠通过产道时来自于通道的身体创伤, 体循环动脉血压和刚开始呼吸时隔膜的收缩. 对死去的 LOX^{-/-}新生小鼠解剖并进行镜检发现, 隔膜破裂导致腹腔脏器进入胸腔, 进一步通过一系列组织染色技术进行微观分析发现, LOX^{-/-}新生小鼠胸降主动脉的弹性纤维板和内膜中胶原不连续, 呈片段状, 动脉中平滑肌细胞间的接触受到破坏, 且动脉壁增厚, 动脉腔变窄. LOX^{-/-}新生小鼠的其他组织和器官也相应受到影响, 其皮肤很容易撕裂, 肋骨较软, 很容易切断. 这些症状都归咎于 LOX 的缺乏导致了胶原和弹性蛋白交叉连接的不足. LOX 的缺乏是致命性的, 关系到新

生小鼠的存活。而其他的 LOX 成员并不能补偿整个小鼠胚胎缺乏的 LOX, 这可能与 LOX 家族成员具有不同的底物特异性有关, 或者与 LOX 家族成员具有不同的空间与时间表达类型有关^[15]。

此外, LOX 也参与了呼吸系统和皮肤的发育。与野生型小鼠胚胎相比, LOX^{-/-}小鼠胚胎中远端与近端气道发育能力减弱, 肺及肺动脉壁中的弹性纤维染色很淡, 且分布松散, 呈片段状。LOX^{-/-}小鼠胚胎皮肤中的弹性纤维和胶原具有类似异常^[16]。

目前研究者已克隆了 8 个斑马鱼 LOX 基因, 其中 4 个基因(DrLOX、DrLOXL1、DrLOXL2b 和 DrLOXL3b)依次与人的 4 个 LOX 基因(HSLOX、HSLOXL1、HSLOXL2 和 HSLOXL3)具有很高的序列同源性。Gansner 等^[17]和 Reynaud 等^[18]选用斑马鱼作为生物模型, 研究了 DrLOX 家族成员在发育中的作用。结果显示, 斑马鱼发育过程中, 中枢神经系统和肌肉中有大量 DrLOX 基因的表达, 脊索部位只能检测到 DrLOXL1、DrLOXL2b 与 DrLOXL3b 的表达。DrLOX 基因和 DrLOXL1 基因下调均造成斑马鱼脊索呈波纹状扭曲, 此外 DrLOX 基因下调还导致斑马鱼前后轴切断, 头小, 体节结构异常, 这些症状与加入 LOX 抑制剂 β -BAPN 的非洲爪蟾的表现型、加金属蛋白酶抑制剂 MCP1 的斑马鱼的表现型和患有铜缺乏症的斑马鱼表现型相似。LOXL2b 与 LOXL3b 基因下调时, 脊索表型结构变化不大。这说明 LOXL1 在脊椎动物发育过程中起着重要作用。

3.2 LOXs 在组织修复中的作用

在大鼠损伤愈合模型中, 发生于皮下注射海绵组织的炎症反应会诱导肉芽组织形成以及胶原蛋白在海绵组织中定位。在 10~34 天时间段内, 很薄的纤维囊形成, 并且大量炎症细胞侵入海绵体内。在第 10 天, 纤维囊中的肉芽组织具有很高的 LOX 活性, 随着时间延长, 到第 34 天, LOX 活性降到 55%。在晚期, 纤维囊中的肉芽组织被胶原纤维束代替。在大鼠皮肤伤口愈合模型研究中, 研究者通过 RNA 印迹技术检测到皮肤损伤后第 3 天, LOX mRNA 水平增长了 3.5 倍, 达到峰值水平, 并且这种高表达状态一直延续到第 22 天。与 LOX mRNA 相比, LOX 的活性在第 9 天才达到峰值, 也就是说 BMP 对 LOX 的蛋白质水解激活延后了。LOX 的底物 III 型胶原产生相对较晚, 其 mRNA 水平在皮肤损伤后第 3 天具有上升趋势, 到第 9 天

mRNA 水平到达峰值^[19]。可以推测, LOX 在成纤维细胞内以无活性形式存在, 当细胞外底物水平大量增加时, LOX 分泌到细胞外空间。研究者运用 TGF- β 1 基因转移方法加快了受伤跟腱的修复并且提高了愈合后跟腱的力学强度, 主要原因之一就是由于 TGF- β 1 对 LOX 的产生具有促进作用, LOX 表达及活性增加促进了胶原的交叉连接以及胞外基质重塑^[20]。

4 LOXs 与人类疾病

4.1 结缔组织病(connective tissue disease, CTD)

狭义的结缔组织病指以疏松结缔组织黏液样水肿及纤维样变性为病理基础的一组疾病, 包括红斑狼疮、硬皮病、皮炎、类风湿性关节炎等。广义的结缔组织病指由于先天性的缺陷使结缔组织中某种成分(如胶原、弹性蛋白或糖胺聚糖)的生物合成或降解发生异常而引起的疾病, 包括: 马尔方氏(Marfan)综合征和埃勒斯-当洛二氏(Ehlers-Danlos)综合征等。

4.1.1 硬皮病(scleroderma, SCL). SCL 是一种皮肤和内脏器官的结缔组织发生纤维化、硬化, 最后萎缩的自身免疫性结缔组织病。其主要特点为皮肤、滑膜、骨骼肌、血管和食道出现纤维化或硬化。有些内脏器官, 如肺、心脏、肾脏和大小动脉也可有类似的病变。该病分为局限性和系统性两大类。前者是以皮肤硬化为主要表现, 又称为硬斑病(morphea); 后者又称系统性硬化病(systemic sclerosis)是一个多系统疾病, 同时发生血管异常、结缔组织硬化和萎缩及自身免疫异常。研究指出, 硬皮病影响的组织中 LOX 基因和蛋白质水平及活性大大增加, 研究者通过转录谱分析证实 SCL 病人真皮成纤维中 LOX 的基因水平确有增加, 然而微纤丝网络蛋白(包括 fibulin-1)基因的转录水平大幅度降低, qRT-PCR 分析和 Western blot 分析进一步指出基底膜蛋白 fibulin-1(FBLN1)的基因和蛋白质水平呈下调趋势。由于先前已发现细胞外基质中 fibulin-1 通过与 LOX 相互作用调节 LOX 的活性, fibulin-1 基因与蛋白质水平的下调削弱了 fibulin-1 与 LOX 之间的相互作用, 从而增加了活性 LOX 的含量, 最终导致真皮纤维化病变产生^[21]。

4.1.2 Marfan 综合征和 Ehlers-Danlos 综合征. Marfan 综合征和 Ehlers-Danlos 综合征都属于先天性结缔组织发育不良症。研究认为弹性蛋白和胶原组织肽链之间的交叉连接受损与 LOX 缺陷有关^[22]。

4.2 剥脱综合征(exfoliation syndrome, XFS)

XFS 又称假性剥脱综合征, 是一种常见的与年龄相关的系统性疾病, 是一种以纤维状物质在许多眼部组织及皮肤、内脏器官的结缔组织中产生和进行性蓄积为特征的细胞外基质代谢紊乱性疾病. 这种病的患病率差异较大, 主要发生于 60 岁以上的老年人, 最小的发病年龄为 17 岁. 目前此症被认为是诱发开角青光眼的主要因素.

研究发现, 来自于冰岛、瑞典和斯堪的纳维亚人群的 XFS 的发生与 LOXL1 基因中两个单核苷酸多态性(single-nucleotide polymorphisms, SNPs)有关, 分别是: rs1048661 和 rs3825942. 日本人群中的 XFS 和剥脱性青光眼(exfoliation glaucoma, XFG)的发生也同样与 LOXL1 基因中的 rs1048661 和 rs3825942 有关, 然而 rs1048661 中的 G 等位基因却不能诱发 XFS, 说明日本人与白人 XFS 病人的等位基因与单体型不同, 具有种族区别^[23]. 由于 rs1048661 与 rs3825942 两个 SNPs 位于 LOXL1 的 PP 区, 因此 PP 区序列变异会改变 LOXL 的底物特异性, 导致弹性微纤维组分交叉连接异常、聚集、溶解性降低并最终转变为剥脱纤维^[24].

Schlötzer-Schrehardt 和 Sharma 等^[25]分别通过免疫标记和质谱分析检测到 LOXL1 蛋白出现于 XFS 沉积处. 进一步研究发现 LOXL1 的表达水平和活性在病症不同时期表现出不同变化. 病症早期, LOXL1 表达上调, 同时伴随弹性纤维形成所需的细胞外基质成分(如微纤维蛋白 -1、弹性蛋白原、纤连蛋白 -2 和潜在性转化生长因子结合蛋白 -1)上调, 病症晚期, 为了抵消细胞外空间的 LOXL1 积聚, LOXL1 表达逐渐下调, 由此产生的 LOXL1 在组织水平的不足将会影响弹性蛋白稳态以及细胞外基质的生物力学性质, 最终容易破坏细胞外基质结构. 多种环境因素(转化生长因子、氧化应激和低氧状态)可引起 LOXL1 表达和活性的改变及细胞外基质的合成^[26]. LOXL1 在基因和蛋白质水平上与 XFS 存在的关系说明 LOXL 在 XFS 的病理研究中起着重要作用.

4.3 铜代谢障碍性疾病 (disorders of copper metabolism)

LOXs 将铜作为辅基, 只有与铜结合才会有活性. 铜是生物体必要的营养元素, 参与正常的细胞代谢, 在人的所有细胞和组织中几乎都有铜的存在, 其中在人的肝脏、大脑和头发中含量最高. 一

个成年人整个身体铜的平均含量大约在 50~80 mg 左右. 人身体内铜的平衡依赖于肠对铜的吸收进而被细胞摄取与胆汁对铜的分泌之间的平衡. 一旦失衡, 如铜缺乏或铜过剩都会引发多种铜代谢障碍性疾病, 如 Menkes 综合征和威尔森氏征.

4.3.1 Menkes 综合征. Menkes 综合征又称“卷发综合征”, 是一种由于正常编码铜转运 ATP 酶的 X 染色体基因(ATP7A)缺陷所致的罕见的人类先天性铜缺乏征. 临床主要表现为毛发刚脆卷曲, 骨骼异常, 生长发育障碍, 智力低下, 惊厥以及中枢神经系统进行性的变性等. 患者的其他临床特征与特异性需铜酶的活性缺乏有关. 例如: 人的皮肤松弛、血管扭曲、膀胱憩室、胃息肉及肱动脉瘤等结缔组织病变都与 LOX 的缺乏有关. 近几年, 有人报道 Menkes 综合征患者具有颈内静脉扩张的症状. 颈内静脉扩张也就是通常所说的头部和颈部区域的静脉发生畸变. 在儿童群体中, 颈内静脉扩张发生在右侧; 在成年人群体中, 颈内静脉扩张发生在左侧. 在 Menkes 综合征患者体内, LOX 活性降低减少了颈动脉鞘中颈深筋膜的力学强度, 从而更易引起颈内静脉扩张^[27].

4.3.2 威尔森氏症(wilson disease, WD). WD 是一种常染色体隐性遗传病, 是因第十三对染色体上的两个基因(ATP7B)异常, 造成血浆中携带铜离子的蓝胞浆素(ceruloplasmin)缺乏, 使得铜离子代谢产生异常, 让过多的铜离子在肝、脑、角膜、心脏等处沉淀, 造成全身性的症状. 此病患者的肝脏症状最为明显, 肝脏纤维化并且随时间演变为肝硬化. 威尔森氏症患者的肝细胞和纤维化病灶区域细胞(如成纤维样细胞)内表达有大量 LOX 和 LOXL2, 且在患者的肝没有纤维化时就能检测到 LOX 和 LOXL2 表达, 但在健康人肝细胞中不能检测到 LOX 和 LOXL2 表达, 因此肝细胞中 LOX 和 LOXL2 的特异性表达可作为诊断威尔森氏症的标记物. WD 患者肝细胞内 LOX 和 LOXL2 的表达将会促进肝纤维化的进行, 这一现象在其他由肝炎病毒引起的纤维化肝病(乙型肝炎和丙型肝炎)中并不存在, 是由于 LOX 和 LOXL2 不在乙型肝炎或丙型肝炎患者肝细胞内表达, 只在纤维化病灶区域细胞内表达. 目前, 铜离子螯合剂——D-青霉胺通过抑制 LOX 和 LOXL2 的活性来抑制肝纤维化, 从而达到治疗 WD 的目的. 然而肝的再生需要血管生成, 这一过程会被铜的螯合剂抑制. 从 LOX

入手, 使用 BAPN 治疗 WD, 但是 LOX2 与 LOX 相比, 不易受到 β -氨基丙腈(β -aminopropionitrile, β -BAPN)影响, 也就是说一种 LOX 抑制剂并不能有效地抑制所有 LOX, 需要寻找新的药物^[28].

4.3.3 肺气肿 (emphysema). 肺气肿是指终末细支气管远端(呼吸细支气管、肺泡管、肺泡囊和肺泡)的气道弹性减退, 过度膨胀、充气和肺容积增大或同时伴有气道壁破坏的病理状态. 长期职业性接触镉或吸烟的人容易患肺气肿. 镉可以被人体吸收并在肺内累积长达 9 年之久, 并与金属硫蛋白(metallothionein, MT)和谷胱甘肽(glutathione, GSH)具有很高的亲和力, 且 MT 和 GSH 同时与铜有很高亲和力. 作为对肺内镉含量升高的一种防御反应, MT 与 GSH 的含量升高扰乱了细胞内外铜的平衡, 因此削弱了 LOX 的生物活性. LOX 活性的降低破坏了肺结构的完整性, 削弱了气道的强度及弹性, 最终诱发肺气肿^[29].

4.4 盆腔器官脱垂 (pelvic organ prolapse, POP)

POP 是指各种原因造成的盆底支持功能薄弱导致子宫及其相邻的膀胱和直肠发生下移而引起的一系列临床症状. 盆腔器官的正常功能有赖于盆底结构的完整, 盆底支持组织主要是韧带、肌肉和筋膜互相之间作用和支持, 承托并保持子宫、膀胱和直肠等盆腔脏器位于正常位置. 目前很多研究表明, 盆底结缔组织的主要成分(胶原蛋白、蛋白聚糖、弹性蛋白和糖蛋白)的含量和(或)结构发生改变都有可能引起组织弹性降低, 抗张能力下降, 对盆底支撑作用减弱. Alperin 等^[30]发现, POP 患者中 LOX 与正常人相比有显著性降低, 是诱发 POP 的一个重要原因. 在弹性纤维合成过程中, LOXL1 和 fibulin-5 协同以原纤维形式与弹性蛋白交叠存在, 发挥着重要作用. 原弹性蛋白附着在 fibulin-5 上, fibulin-5 使原弹性蛋白呈定向排列, 然后在 LOXL1 的催化下, 原弹性蛋白转化成赖氨酰去氨基化形式再进行交联. Jung 等^[31]在基因和蛋白质水平测定了 POP 病人子宫骶韧带中 LOXL1 和 Fibulin-5 的表达, 得出: 与对照组相比, POP 病人子宫骶韧带中的 Fibulin-5 表达水平降低, LOXL1 表达水平增加. 这一改变抑制了弹性纤维的合成, 最终导致 POP. 关于 LOXL1 和 fibulin-5 与盆底功能障碍关系的研究还主要集中在动物实验, 如果能从分子生物学水平明确其在人体标本的作用机制, 通过增加 LOXL1 或 fibulin-5 水平(或通过增补剂补充或刺激机体的生成)促进新弹性纤维生成, 或许

将为盆底功能障碍疾病发病机制及其治疗提供新思路. 最近, Klutke 等^[32]研究进一步得出, LOX 基因的启动子区域中甲基化位点的存在导致 LOX 基因表观沉默, 是导致 POP 的主要原因. 因此, 从甲基化位点着手增加 LOX 水平将为治疗 POP 提供有效路径.

4.5 骨疾 (bone disorders)

4.5.1 骨质疏松症 (osteoporosis, OP). OP 亦称为松骨症, 是一种以骨强度降低至使机体罹患骨折危险性增加为特征的骨骼疾病. 骨强度实际反映的是骨密度与骨质量的总和. 骨力学强度的大小除了依赖于骨量外, 还依赖于无机和有机组分的构造和分子结构. 有研究发现, 胶原交叉连接决定着骨力学强度(偏转能力、弯曲应力和弹性刚度), OP 患者骨内 LOX 催化的胶原交叉连接减少是致使骨脆性增加和力学轻度减弱的主要因素^[33]. 血供减少致使氧、铜离子和其他因子的减少影响了 LOX 的表达和活性, 是导致胶原交叉连接减少的重要因子.

有多种药物可以治疗骨质疏松症, 如: 2 β -(3 羟丙氧)-骨化三醇 (ED-71)、 α -骨化醇(ALF)和阿仑膦酸钠(ALN)等. 一旦病人骨折, 这些药物对于骨愈合及力学强度的影响却不为人知. 最近, Saito 等^[34]应用大鼠骨折愈合模型研究了 ALF 和 ALN 两种药物对骨痂中胶原交叉连接和力学强度的影响, 得出: 与对照组相比, ALF 与 ALN 虽然都增加了 LOX 催化的胶原交叉连接, 但是 ALN 延迟了编织骨重塑为板层骨的过程, 因此降低了骨痂的力学性质, 而 ALF 不仅促进了骨痂的重塑, 而且改善了酶催化的胶原交叉连接.

4.5.2 骨质软化症 (osteomalacia, OM) 与佝偻病 (rickets). OM 与 rickets 是以新近形成的骨基质矿化障碍为特点的一种骨骼疾病, 结果导致非矿化的骨样组织(类骨质)堆积, 骨质软化, 产生骨痛、骨畸形、骨折等一系列临床症状和体征. 发生在成人者称 OM, 发生在婴幼儿和儿童者称 rickets. 从病因和发病机制上看两者是完全相同的, 只是在不同年龄阶段表现出不同的临床特征而已. OM 与 rickets 的病因很多(如: 维生素 D 缺乏、磷的代谢障碍和酸中毒等), 20 世纪 70 年代以前相当多国家, 特别是发展中国家仍以维生素 D 缺乏为主要原因. 所谓骨矿化是指无定型的磷酸钙发展为羟基磷灰石结晶埋于骨有机质间隙内的过程. 矿化的骨基质给予了骨骼组织必要的强度, 并为矿物质和生长因子提供了存在的场所. 在这一过程中, 骨基质

中的 I 型胶原为矿物质的定位和生长提供了三维模板。I 型胶原具有的这一功能说明了胶原分子之间通过交叉连接获得的稳定性和适应性对于骨矿化是至关重要的, 交叉连接的改变严重影响了骨矿化, 进而引发各种骨的疾病。在此基础上, Atsawasuwan 等研究更进一步指出 LOX、LOXL1、LOXL3 和 LOXL4 通过为不同阶段骨矿化提供胶原模板而显示出重要性。Nagaoka 等^[9]的研究发现维生素 D₃ 大大上调了 LOXL2 表达, 维生素 D₃ 的这一新颖功能为治疗以上骨疾病提供了亮点。

4.6 动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS)

AS 是血管内皮细胞和平滑肌细胞受各种危险因素刺激后, 造成的血管局部产生的一种过度的慢性炎性增生反应, 针对 AS 发病机制, 研究者们先后提出脂质浸润学说、中膜平滑肌细胞增殖学说、血栓源学说等, 但都不能对 AS 的发病机制提供满意的解释。Ross 修正的“损伤反应”学说将动脉粥样硬化发生与内皮细胞功能障碍紧密联系在一起, 认为内皮细胞功能障碍不仅是 AS 形成之前的一个早期表现, 而且在 AS 的发展过程中也起着极为重要的作用。因此研究血管内皮功能障碍发生、发展规律, 对防治 AS 具有重要意义。

内皮细胞功能障碍与多种促动脉粥样硬化危险因素有关, 如: 高胆固醇血症、高同型半胱氨酸血症、糖尿病及促炎症因子(包括肿瘤坏死因子)等。研究发现肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)导致 LOX 表达和活性降低会使血管发生一些改变, 如: 动脉瘤、动脉弯曲、弹性纤维破碎、内皮细胞与基膜分离以及内皮细胞形态改变等, 是削弱内皮细胞功能进而诱发 AS 的重要原因^[6]。最近发现的他汀类药物(statins)可以削弱 TNF- α 造成的内皮细胞中 LOX 下调, 这将为对此病的治疗提供亮点^[7]。

4.7 神经退行性疾病 (neurodegenerative diseases)

4.7.1 阿尔兹海默病 (Alzheimer's disease, AD).

AD 又称老年性痴呆, 是一种慢性进行性神经退行性疾病。AD 的主要病理特征是 β 淀粉样蛋白(β -amyloid peptide, A β)沉积形成的老年斑。A β 是经 β - 和 γ - 分泌酶水解 β 淀粉样蛋白前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)而产生。APP 钻出细胞膜后, 被分泌酶裂解成蛋白质残片, 这些残片包括 A β 单体。A β 单体在 LOX 作用下, 彼此之间共价交叉连接合成 A β 寡聚体(如三聚体、六聚体、十二聚体以及其他一些水溶性组装状态甚至达到原

纤维水平)。由于 A β 单体是正常细胞产物, 一旦聚集形成寡聚体就会产生毒性, 对人体有害。因此 AD 真正的罪魁祸首是水溶性 A β 寡聚体。这一寡聚体是老年斑形成早期阶段的 A β 团。研究还发现肝素(糖胺聚糖和硫酸类肝素类似物)能够抑制 LOX 催化的 A β 交叉连接的形成^[8]。

4.7.2 肌肉萎缩性侧索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis, ALS).

ALS 是一种累及上运动神经元(大脑、脑干、脊髓), 又影响到下运动神经元(颅神经核、脊髓前角细胞)及其支配的躯干、四肢和头面部肌肉的致命神经退化性疾病。ALS 所有病例中, 大部分是散发性 ALS(SALS), 剩下 10% 是家族性 ALS(FALS)。1993 年, Rosen 等研究发现 FALS 疾病与 21 号染色体上的铜锌超氧化物歧化酶基因(Cu/Zn superoxide dismutase, SOD1)突变有关。迄今为止, SOD1 基因中已发现有 153 个突变位点与 ALS 相关。约 12%~23% 的家族性 ALS(FALS)和 2%~7% 的散发性 ALS(SALS)患者有 SOD1 基因突变。

SOD1 是一种大量分布于细胞胞浆内的同源二聚体蛋白, 它的每一个亚单位的活性位点都结合有铜离子和锌离子。SOD1 突变如何引发 ALS, 目前没有形成统一看法。多项研究表明, 氧化应激、自由基损伤参与 ALS 病理过程。SOD1 的主要功能是催化超氧阴离子自由基发生歧化反应, 生成过氧化氢(H₂O₂)和氧气(O₂), 最终达到平衡机体内氧自由基的目的。一旦 SOD1 基因突变, 便促进超氧阴离子与一氧化氮反应形成高毒性氧化亚硝酸阴自由基, 同时 SOD1 突变体的过氧化物酶活性增加, 过氧化氢被催化产生大量高活性和高毒性的羟自由基, 产生的自由基与细胞中脂类、蛋白质和核酸发生共价反应, 干扰细胞程序, 通过氧化应激过程破坏神经元^[9]。

SOD-1 突变的患者并不是从一出生就会出现 ALS 症状, 说明致病因素只有累积作用达到一个临界点时, 才会引起神经元大范围的退化变性, 从而引发 ALS 的发生与发展。在 ALS 患者腰部脊髓区域有 14 个基因的表达水平发生很大变化, SOD1 突变后导致机体内一系列生理和病理变化而引发 ALS。这 14 个基因具有抗细胞凋亡、抗氧化应激、抗神经炎症、影响运动神经元功能(如分化、成熟和激素敏感性)和脂代谢等作用。其中包含有本文所探讨的 LOX 基因。由于在 LOX 启动子区和增强子区分布有 cAMP 反应元件(cAMP response

element, CRE), CRE 对细胞存活具有保护作用, 因此研究者认为 SOD-1 突变的小鼠体内 LOX 表达及活性的增加是一种保护机制, 以减轻 SOD-1 突变给细胞带来的氧化应激. 然而 LOX 活性的增强增加了催化产物 H_2O_2 的量, 突变的 SOD-1 催化 H_2O_2 , 产生的大量高毒性羟自由基破坏 ALS 病人的神经元. 这说明 LOX 活性的增强加剧了 ALS 病人的氧化应激, 使体内细胞的氧化还原系统失去平衡, 造成运动神经元的损伤^[40].

5 LOXs 的新作用

最近, 研究者发现 LOX 除对细胞外基质蛋白具有氧化作用外, 还具有细胞趋化和癌细胞转化作用, 并且在癌症恶化过程中起拮抗或者促进作用.

5.1 趋化作用

研究者体外运用 Boyden 小室法发现, 从牛主动脉中分离的 LOX 对外周血单个核细胞具有一定趋化作用, 且 LOX 的趋化作用依赖于此酶活性位点的完整性. 进一步研究发现, 如果 LOX 没有失活或者没有过氧化氢酶存在, LOX 对血管平滑肌细胞也具有很强的趋化反应. 因此, 可以肯定 LOX 进行催化反应的产物过氧化氢(H_2O_2)具有调节趋化反应的能力.

Kirschman 等注意到 LOX mRNA 在侵袭性乳腺癌细胞中的表达呈上调趋势, 并且将活性 LOX 加入体外培养的乳腺癌细胞后, 更促进了此种细胞的侵袭. 当乳腺癌细胞中的 LOX 合成受到抑制后, 肌动蛋白应力纤维和 Rho 的活性都有所增加, 这些参数的增加是非运动表型的体现, 从而说明 LOX 活性的抑制限制了乳腺癌细胞的侵袭. 还有研究发现 LOXL1 在转移性的乳腺癌细胞系中也具有高表达现象, 乳腺癌细胞转移性的增加以及纤维化病灶的扩大与 LOXL1 的高表达有密不可分的关系, 说明 LOX 家族的成员 LOXL1 对转化细胞也具有趋化效应^[41]. 同样, LOXL2 在乳腺癌细胞、食管癌细胞、前列腺癌细胞中表现出高表达, 特别是在胰腺导管腺癌中, LOXL2 是上调幅度最大的基因之一, 它通过调节上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)以及与侵袭和转移相关的不同转录因子的表达促进癌细胞侵袭^[42]. EMT 是胚胎发育中一个基本过程, 它使在特殊部位产生的上皮细胞从上皮组织分离并迁移到其他位置, 是正常发育、伤口愈合以及恶性上皮肿瘤发生的基础.

研究者发现低氧通过诱导 LOX 表达促进各种癌细胞迁移, 研究指出处于低氧状态的头颈肿瘤细胞大量表达 LOX, 一旦加入 LOX 抑制剂 BAPN、LOX 反义寡核苷酸、LOX 抗体或者表达小发卡 RNA, 头颈肿瘤细胞的迁移就会受到抑制, 说明 LOX 参与了低氧诱发头颈肿瘤细胞转移这一过程^[1, 42]. 最近有研究发现了一种新颖的肿瘤抑制剂 Pdcd4, 它的过量表达能够逆转低氧诱导的乳腺癌细胞中 LOX 的表达, 且这一逆转过程不依赖于低氧诱导因子-1(hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)^[43].

5.2 癌细胞转化

由于 LOX 能够抑制原癌基因(ras)的转化活性, 因而又被称为 ras 剪切基因(rrg). 在人转化性细胞系中, 包括: 黑色素瘤、绒毛膜癌、SV40 病毒转化的细胞系、H-ras 原癌基因转化的大鼠胚胎成纤维细胞和 H-ras 原癌基因转化的小鼠 NIH-3T3 成纤维细胞(RS485 细胞), LOX 基因的转录水平大大降低^[4]. 研究者发现, 当在 H-ras 原癌基因转化的小鼠 NIH-3T3 成纤维细胞中加入干扰素 α 或干扰素 β 后, 这些转化性细胞或肿瘤细胞中 LOX 的转录水平增加并恢复正常水平, 细胞也回复到正常表型, 不再生成肿瘤^[44]. 胃癌中 LOX 的表达水平同样具有下调趋势, 并且 LOX 失活是由于基因甲基化以及杂合度丧失造成的, 一旦加入甲基转移酶抑制剂(5-azadC), LOX 会增强表达^[4]. 以上实验论证了 LOX 具有肿瘤抑制功能. Palamakumbura 等^[45]的研究第一次指出, H-ras 原癌基因转化的 NIH-3T3 成纤维细胞表型的回复与 LOX-PP 有关, 而与 LOX 活性无关. 而最近研究发现这种表型回复的进行离不开整个 LOX 酶原^[45]. 另一方面, 肾癌与食管鳞癌中的 LOX 表达却成上调趋势, 而且体外实验发现, 人乳腺癌细胞系中 LOX 通过促进癌细胞迁移而加剧肿瘤恶化, 这些迹象又说明 LOX 不具有肿瘤抑制功能^[46]. 对于 LOX 的肿瘤抑制功能所产生的分歧, Kirschmann 等认为 LOX 的这一功能因细胞种类不同而不同. 还有学者认为癌细胞中 LOX 过度表达是在抑制癌细胞的过度增殖, 仍然在发挥肿瘤抑制功能.

NF- κ B 是一种重要的核转录因子, 能够调节 Ras 诱导的细胞转化. NF- κ B 在没有被激活前与抑制因子 I κ B 结合于细胞质中, 当 I κ B 被 I κ B 激酶复合物磷酸化后, 发生泛素化, 并脱离了胞浆中的 NF- κ B, 接着 NF- κ B 就会进入细胞核. Jeay 等的研究表明, 转化型 NIH 3T3 细胞中 LOX 异位表达

降低了 I κ B α 的转换率和 I κ B 激酶(IKK α 和 IKK β) 的磷酸化活性, 从而抑制 NF- κ B 进入细胞核与 c-myc 启动子中的上游 NF- κ B 结合元件结合, 最终抑制细胞转化. 另外有研究者指出, LOX 异位表达还能通过下调磷脂酰肌醇 3(PI3K 激酶)和丝 / 苏氨酸蛋白(Akt 激酶)以及抑制丝裂原活化蛋白(MEK 激酶)活性来抑制 NF- κ B, 从而抑制细胞转化^[1]. 总之, 我们可以肯定 LOX 对 Ras 诱导的细胞转化的抑制作用是通过能够活化 NF- κ B 信号通路的抑制作用完成的.

6 小结与展望

LOXs 是一种多功能酶家族, 对它的研究已经深入到各个层面, 包括细胞增殖、细胞趋化和肿瘤发生等, 其功能的多样性预示着此酶家族可能具有广泛的应用前景. LOXs 与人类疾病的关系一直是研究热点, 研究 LOXs 在疾病发生中的作用及机制, 将为相关疾病的治疗提供新的靶点.

参 考 文 献

- Lucero H A, Kagan H M. Lysyl oxidase: an oxidative enzyme and effector of cell function. *Cell Mol Life Sci*, 2006, **63**(19-20): 2304-2316
- Saad F A, Torres M, Wang H, *et al.* Intracellular lysyl oxidase: Effect of a specific inhibitor on nuclear mass in proliferating cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, **396**(4): 944-949
- Uzel M I, Scott I C, Babakhanlou-Chase H, *et al.* Multiple bone morphogenetic protein 1-related mammalian metalloproteinases process pro-lysyl oxidase at the correct physiological site and control lysyl oxidase activation in mouse embryo fibroblast cultures. *J Biol Chem*, 2001, **276**(25): 22537-22543
- Fogelgren B, Polgár N, Szauter K M, *et al.* Cellular fibronectin binds to lysyl oxidase with high affinity and is critical for its proteolytic activation. *J Biol Chem*, 2005, **280**(26): 24690-24697
- 贲其稳. Periostin 在恶性肿瘤中的作用研究进展. *肿瘤防治研究*, 2009, **36**(5): 440-442
Ben Q W. *Cancer Research on Prevention and Treatment*, 2009, **36**(5): 440-442
- Maruhashi T, Kii I, Saito M, *et al.* Interaction between periostin and bmp-1 promotes proteolytic activation of lysyl oxidase. *J Biol Chem*, 2010, **285**(17): 13294-13303
- Thomassin L, Werneck C C, Broekelmann T J, *et al.* The Pro-regions of lysyl oxidase and lysyl oxidase-like 1 are required for deposition onto elastic fibers. *J Biol Chem*, 2005, **280**(52): 42848-42855
- Vora S R, Guo Y, Stephens D N, *et al.* Characterization of recombinant lysyl oxidase propeptide. *Biochem*, 2010, **49** (13): 2962-2972
- Guo Y, Pischon N, Palamakumbura A H, *et al.* Intracellular distribution of the lysyl oxidase propeptide in osteoblastic cells. *J Am Physiol Cell Physiol*, 2007, **292**(6): 2095-2102
- Horiguchi M, Inoue T, Ohbayashi T, *et al.* Fibulin-4 conducts proper elastogenesis *via* interaction with cross-linking enzyme lysyl oxidase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, **106**(45): 19029-19034
- Palamakumbura A H, Jeay S, Guo Y, *et al.* The propeptide domain of lysyl oxidase induces phenotypic reversion of ras-transformed cells. *J Biol Chem*, 2004, **279**(39): 40593-40600
- Palamakumbura A H, Vora S R, Nugent M A, *et al.* Lysyl oxidase propeptide inhibits prostate cancer cell growth by mechanisms that target FGF-2-cell binding and signaling. *Oncogene*, 2009, **28**(38): 3390-3400
- Hurtado P A, Vora S, Sume S S, *et al.* Lysyl oxidase propeptide inhibits smooth muscle cell signaling and proliferation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, **366**(1): 156-161
- Ryvkina F, Greenaway F T. A peptide model of the copper-binding region of lysyl oxidase. *J Inorg Biochem*, 2004, **98**(8): 1427-1435
- Hornstra I K, Birge S, Starcher B, *et al.* Lysyl oxidase is required for vascular and diaphragmatic development in mice. *J Biol Chem*, 2003, **278**(16): 14387-14393
- Mäki J M, Sormunen R, Lippo S, *et al.* Lysyl oxidase is essential for normal development and function of the respiratory system and for the integrity of elastic and collagen fibers in various tissues. *J Am Pathol*, 2005, **167**(4): 927-936
- Gansner J M, Mendelsohn B A, Hultman K A, *et al.* Essential role of lysyl oxidases in notochord development. *Dev Biol*, 2007, **307**(2): 202-213
- Reynaud C, Baas D, Gleyzal C, *et al.* Morpholino knockdown of lysyl oxidase impairs zebrafish development, and reflects some aspects of copper metabolism disorders. *Matrix Biol*, 2008, **27**(6): 547-560
- Szauter K M, Cao T Y, Boyd C D, *et al.* Lysyl oxidase in development, aging and pathologies of the skin. *Pathol Biol*, 2005, **53**(7): 448-456
- Hou Y, Mao Z B, Wei X L, *et al.* The roles of TGF-beta1 gene transfer on collagen formation during Achilles tendon healing. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, **383**(2): 235-239
- Ordas A, Szauter K M, Fogelgren B, *et al.* Lysyl oxidase and fibulin-1 interactions in scleroderma. *Matrix Biol*, 2006, **25**(Supplement 1): 37
- Layman D L, Sampath Narayanan A, Martin G R. The production of lysyl oxidase by human fibroblasts in culture. *Arch Biochem Biophys*, 1972, **149**(1): 97-101
- Hayashi H, Gotoh N, Uedo Y, *et al.* Lysyl Oxidase-like 1 polymorphisms and exfoliation syndrome in the Japanese population. *J Am Ophthalmol*, 2008, **145**(3): 582-585
- Pasutto F, Krumbiegel M, Mardin C Y, *et al.* Association of LOXL1 common sequence variants in German and Italian patients with pseudoexfoliation syndrome and pseudoexfoliation glaucoma. *Invest Ophth Vis Sci*, 2008, **49**(4): 1459-1463
- Sharma S, Chataway T, Burdon K P, *et al.* Identification of LOXL1 protein and Apolipoprotein E as components of surgically isolated

- pseudoexfoliation material by direct mass spectrometry. *Exp Eye Res*, 2009, **89**(4): 479–485
- [26] Schlätzer-Schrehardt U. Molecular pathology of pseudoexfoliation syndrome/glaucoma--new insights from LOXL1 gene associations. *Exp Eye Res*, 2009, **88**(4): 776–785
- [27] Price D J, Ravindranath T, Kaler S G, *et al.* Internal jugular phlebotasia in Menkes disease. *J Int of Pediatr Otorhi*, 2007, **71**(7): 1145–1148
- [28] Vadasz Z, Kessler O, Akiri G, *et al.* Abnormal deposition of collagen around hepatocytes in Wilson's disease is associated with hepatocyte specific expression of lysyl oxidase and lysyl oxidase like protein-2. *J Hepatol*, 2005, **43**(3): 499–507
- [29] Zhao Y Z, Chen L J, Gao S, *et al.* The critical role of the cellular thiol homeostasis in cadmium perturbation of the lung extracellular matrix. *Toxicology*, 2010, **267**(1–3): 60–69
- [30] Alperin M, Debes K, Abramowitch S, *et al.* LOXL1 deficiency negatively impacts the biomechanical properties of the mouse vagina and supportive tissues. *J Int Urogynecol*, 2008, **19**(7): 977–986
- [31] Jung H J, Jeon M J, Yim G W, *et al.* Changes in expression of fibulin-5 and lysyl oxidase-like1 associated with pelvic organ prolapse. *J Eur Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2009, **145**(1):117–122
- [32] Klutke J, Stanczyk F Z, Ji Q, *et al.* Suppression of lysyl oxidase gene expression by methylation in pelvic organ prolapse. *J Int Urogynecol Pelvic Floor Dysfunct*, 2010, **21**(7): 869–872
- [33] Oxlund H, Barckman M, Ortoft G, *et al.* Reduced concentration of collagen cross-links are associated with reduced strength of bone. *Bone*, 1995, **17**(4 Suppl): 365–371
- [34] Saito M, Shiraishi A, Ito M, *et al.* Comparison of effects of alfacalcidol and alendronate on mechanical properties and bone collagen cross-links of callus in the fracture repair rat model. *Bone*, 2010, **46**(4): 1170–1179
- [35] Nagaoka H, Mochida Y, Atsawasuwan P, *et al.* 1,25 (OH)₂D₃ regulates collagen quality in an osteoblastic cell culture system. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, **377**(2): 674–678
- [36] Rodríguez C, Alcudia J F, Martínez-González J, *et al.* Lysyl oxidase (LOX) down-regulation by TNF α : A new mechanism underlying TNF α -induced endothelial dysfunction. *Atherosclerosis*, 2008, **196**(2): 558–564
- [37] Rodríguez C, Alcudia J F, Martínez-González J, *et al.* Statins normalize vascular lysyl oxidase down-regulation induced by proatherogenic risk factors. *Cardiovasc Res*, 2009, **83**(3): 595–603
- [38] Gilad G M, Kagan H M, Gilad V H. Evidence for increased lysyl oxidase, the extracellular matrix-forming enzyme, in Alzheimer's disease brain. *Neurosci Lett*, 2005, **376**(3): 210–214
- [39] Mulligan V K, Kerman A, Ho S, *et al.* Denaturational stress induces formation of zinc-deficient monomers of Cu, Zn superoxide dismutase: implications for pathogenesis in amyotrophic lateral sclerosis. *J Mol Biol*, 2008, **383**(2): 424–436
- [40] Li P A, He Q P, Cao T Y, *et al.* Up-regulation and altered distribution of lysyl oxidase in the central nervous system of mutant SOD1 transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Brain Res Mol Brain Res*, 2004, **120**(2): 115–122
- [41] Rückert F, Joensson P, Saeger H D, *et al.* Functional analysis of LOXL2 in pancreatic carcinoma. *J Int Colorectal Dis*, 2010, **25**(3): 303–311
- [42] Denko N C, Fontana L A, Hudson K M, *et al.* Investigating hypoxic tumor physiology through gene expression patterns. *Oncogene*, 2003, **22**(37): 5907–5914
- [43] Santhanam A N, Baker A R, Hegamyer G. Pcd4 repression of lysyl oxidase inhibits hypoxia-induced breast cancer cell invasion. *Oncogene*, 2010, **29**(27): 3921–3932
- [44] Contente S, Kenyon K, Sriraman P, *et al.* Epigenetic inhibition of lysyl oxidase transcription after transformation by ras oncogene. *Mol Cell Biochem*, 1999, **194**(1–2): 79–91
- [45] Contente S, Yeh T J, Friedman R M. Tumor suppressive effect of lysyl oxidase proenzyme. *Biochim Biophys Acta*, 2009, **1793**(7): 1272–1278
- [46] Sakai M, Kato H, Sano A, *et al.* Expression of lysyl oxidase is correlated with lymph node metastasis and poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol*, 2009, **16**(9): 2494–2501

Lysyl Oxidases Related to Human Diseases*

ZHANG Yan-Jun¹⁾, JIANG Jia-Huan¹⁾, XIE Jing¹⁾, YANG Li¹⁾, SUNG KL Paul^{1,2)**}

¹⁾Key Laboratory of Biorheological Science and Technology(Chongqing University), Ministry of Education,
Bioengineering College, Chongqing University, Chongqing 400044, China;

²⁾Departments of Orthopedics and Bioengineering, University of California at San Diego, La Jolla, CA 92093, USA)

Abstract Lysyl oxidases (LOXs) are a family of anabolic enzymes that function to maintain, heal, and remodel tissue architecture by cross linking the extracellular matrix proteins, collagens and elastins. In a series of studies, LOXs have been considered as a family of multi-functional enzymes, which play an essential role in cell proliferation, cell chemotactical responses and tumor genesis. LOXs have now been implicated in several pathological conditions including connective tissue disease, exfoliation syndrome, disorders of copper metabolism, pelvic organ prolapse and bone disorders, so on. Its biosynthesis, structure characteristics, multi-function and relationship between LOXs and human diseases were summarized.

Key words lysyl oxidase, extra cellular matrix, matrix crosslink, remodeling, tissue healing

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2010.00468

* This work was supported by grants from 111 Plan (B06023) and Key Technologies R & D Program of Chongqing(CSTC, 20085129).

**Corresponding author.

Tel: 86-13647643300, E-mail: sungkl2@cqu.edu.cn

Received: September 9, 2010 Accepted: December 2, 2010