

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.25.006

文章编号: 1005-8982(2017)25-0028-04

类赖氨酰氧化酶 1 在翼状胬肉中的表达*

覃瑞, 马文豪, 罗燕妮, 施智敏, 陆丽丽, 覃志良
(右江民族医学院附属医院 眼科, 广西 百色 533000)

摘要:目的 通过检测正常结膜组织和翼状胬肉中类赖氨酰氧化酶 1(LOXL-1)的表达,探讨 LOXL-1 在翼状胬肉发展过程中的影响及意义。**方法** 采用免疫组织化学检查正常结膜组织(19 例)和翼状胬肉组织(25 例)中 LOXL-1 的表达情况,测定两组免疫组织化学结果的光密度值。**结果** 正常结膜组织与翼状胬肉中 LOXL-1 的光密度值比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),正常结膜组织偏低。**结论** 翼状胬肉组织中 LOXL-1 的表达较正常结膜组织高,LOXL-1 在翼状胬肉发展中起到了促进的作用。

关键词: 类赖氨酰氧化酶 1;翼状胬肉;表达

中图分类号: R772

文献标识码: A

Expression of lysyloxidase like 1 in pterygium*

Rui Qin, Wen-hao Ma, Yan-ni Luo, Zhi-min Shi, Li-li Lu, Zhi-liang Qin
(Department of Ophthalmology, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for
Nationalities, Baise, Guangxi 533000, China)

Abstract: Objective To compare the expression of lysyloxidase like 1 (LOXL-1) in normal conjunctiva tissues and pterygium, and explore the influence and significance of LOXL-1 in the course of pterygium development. **Methods** Using immunohistochemistry, LOXL-1 expression in normal conjunctiva tissues (19 cases) and pterygium (25 cases) was examined, optical density value was detected. Then *t* test was carried out. **Results** The optical density value in the normal conjunctiva tissues was lower than that in the pterygium ($P < 0.05$). **Conclusions** The expression of LOXL-1 in pterygium is higher than that in normal conjunctiva tissues. LOXL-1 plays an important role in promoting the development of pterygium.

Keywords: LOXL-1; pterygium; expression

类赖氨酰氧化酶 1(lysyl oxidase like 1, LOXL-1)是 LOX 家族中的一员,它们是 LOX、LOXL-1、LOXL-2、LOXL-3 和 LOXL-4。LOXL-1 对于纤维蛋白的形成起重要的作用,LOX 的所有家中成员,都含 2 个高度保守的区域,第一个连接于 N 末端,一共是 4 个组氨酸,它是铜离子结合的部位,另外一个区域连接于 C 末端,其中含有络氨酸的残基,此区是催化的区域,和赖氨酸结合,形成催化基团 - 赖氨酰络氨酸,LOX 通过氧化胶原蛋白和弹性蛋白的赖氨酸残基来起始这些纤维性蛋白的共价交联^[1]。LOX 能促进细胞外基质中胶原蛋白和弹性蛋

白的结合,以共价键的形式交联,形成稳定的纤维结缔组织,在多个组织和器官中,起着支持和维护的作用。但在一些疾病中,纤维结缔组织的过度增生,导致了疾病的进一步发展,LOXL-1 过度表达,引起细胞外纤维蛋白的过度交联,引起渐进的、不可逆的组织纤维化,在眼表的疾病中,表现为胶原蛋白沉积,与弹性蛋白交联,启动纤维蛋白不定向的、复杂的交织,引导翼状胬肉的进一步发展^[2]。本文通过免疫组织化学,测定翼状胬肉中 LOXL-1 的阳性率,分析 LOXL-1 的含量与翼状胬肉的关系,或有助于阐明翼状胬肉发病机制。

收稿日期:2016-12-09

* 基金项目:百色市科学研究与技术开发项目(No:百科技 20160619);广西壮族自治区中青年教师基础能力提升项目[No:桂教科研(2017)16 号]

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 实验标本和分组 告知患者选取标本不影响伤口愈合并取得其同意后取外伤患者撕裂的鼻侧结膜组织,或眼球摘除、义眼台植入患者的鼻侧结膜组织,水平、垂直约 1 mm × 3 mm,以上患者排除翼状胬肉、睑裂斑或其他可能导致纤维增生的眼表疾病,共 15 例,作为阴性对照组。取翼状胬肉患者鼻侧切除的翼状胬肉头部组织大约 1 mm × 3 mm,共 25 例作为实验组。取原发性肝细胞癌 3 例行免疫组织化学检查作为阳性对照组^[3]。标本置液氮中保存。

1.1.2 主要试剂和仪器 Max Vision 试剂盒(福州迈新生物技术开发有限公司),Rabbit anti-LOXL1(北京奥森生物技术有限公司)。德国美康石蜡切片机、石蜡包埋机。

1.2 方法

参照文献[4]进行免疫组织化学实验。其中 LOXL-1 抗体的浓度为 1 : 100。

1.3 记录结果

取 40 × 10 高倍镜下截图进行分析,每张切片随机选取 5 个视野进行截图,采用 ImagePro Plus 6.0 软件进行分析计算,记录其累计光密度值(integrated optical density,IOD),每个切片截图后取算术平均值作为该切片 IOD 值^[5]。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 17.0 软件进行数据处理,数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用两组间双侧 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

3 组的 LOXL-1 免疫组织化学结果表明 LOXL-1 被染成紫蓝色,在实验组、阴性对照组及阳性对照组中均有不同程度着色,但因 LOXL-1 含量不同,其累积着色面积不同。实验组着色深蓝色,着色面积、着色点数较阳性对照组大、多。阴性对照组着色浅蓝,着色面积小,着色点数少。阳性对照组中,原发性肝细胞癌 LOXL-1 着色明显深,着色点数多,面积大。另外,在阳性对照组及实验组中,纤维化明显、清晰可见。而阴性对照组中,纤维化极少或者极轻。见图 1~3。采用 ImagePro Plus 对实验组 and 对照组进行光密度测量,实验组 IOD 值为($235\,983.920 \pm 80\,313.409$),阴性对照组 IOD 值为($38\,112.580 \pm 23\,381.950$),经两独立

样本 t 检验,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见附表和图 4。

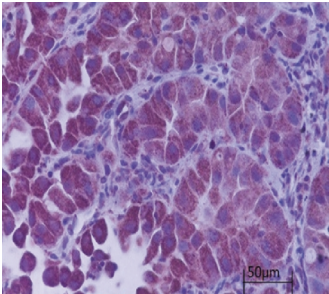


图 1 LOXL-1 在阳性对照组中的表达

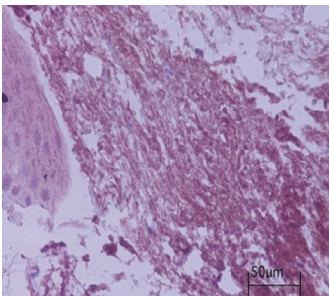


图 2 LOXL-1 在阴性对照组中的表达

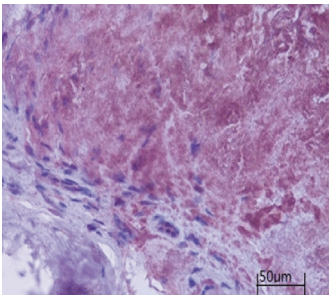


图 3 LOXL-1 在实验组中的表达

附表 LOXL-1 在阴性对照组和实验组的 IOD 值 ($\bar{x} \pm s$)

组别	IOD 值	t 值	P 值
对照组 ($n=19$)	$38\,112.580 \pm 23\,381.950$	-10.384	0.000
实验组 ($n=25$)	$235\,983.920 \pm 80\,313.409$		

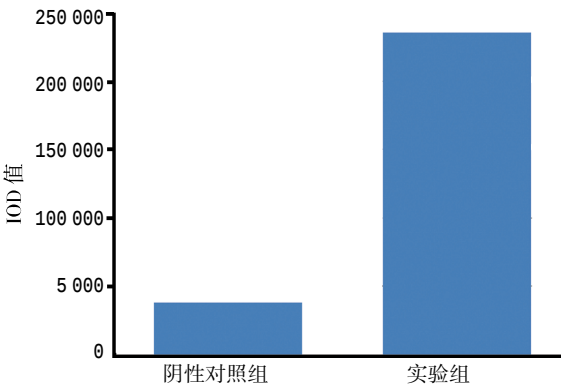


图 4 阴性对照组和实验组 IOD 值比较

3 讨论

翼状胬肉是我国常见病,多发病,其发病机制不详。经常规的 HE 染色发现,主要表现为炎症细胞、新生的毛细血管及纤维细胞为主。其触发可能为眼表结构的破坏,然后是角膜缘干细胞的破坏、角膜缘屏障的破坏,炎症的侵入,促进了翼状胬肉的发展,其发展过程中,与弹性和胶原蛋白的交联关系密切,LOXL-1 在纤维交联的过程中,起到了重要的促进作用。因此,研究 LOXL-1 在翼状胬肉中的表达和调控,可能对翼状胬肉的发展起到干扰或者阻止的作用。

本研究表明,翼状胬肉中 LOXL-1 在翼状胬肉中的表达,高于非翼状胬肉外伤患者的结膜组织,差异有统计学意义。推测 LOXL-1 在翼状胬肉发展的过程中,起到了促进的作用。LOXL-1 在多种疾病中均有表达,在纤维化过度的疾病中表达增高,在纤维化减少的疾病中表达减少^[6],因此,可以推测,LOXL-1 在纤维化过度的疾病中,差异无统计学意义。其他纤维化过度疾病的治疗药物,也可能用于翼状胬肉的治疗。目前纤维化过度疾病的治疗,尚无有效的可逆转的药物,翼状胬肉的药物治理应当侧重于早期翼状胬肉的治疗及预防,干预、调控 LOXL-1 的表达,阻止纤维化的进展,干扰翼状胬肉的进一步形成,达到治疗的目的。

LOXL-1 的基因定位,在于第 15 对染色体 q24~25,另外在 q22 部分区段也有编码。作为一种分泌蛋白,LOXL-1 首先合成其前体,于高尔基体内,被糖基修饰,当它分泌出细胞的时候,以酶原的形式泌出,在 C 蛋白或 Tolloid 蛋白水解酶的作用下,赖氨酰氧化酶水解为 2 部分,一部分是游离催化剂,另一部分是氨基末端的前肽区域,成为具有活性的 LOXL-1,促使弹性蛋白和胶原蛋白在细胞外基质的交联。LOXL-1 表达过度的时候,引起细胞外纤维蛋白的过度交联,引起渐进的、不可逆的组织纤维化,在眼表的疾病中,表现为胶原蛋白沉积,与弹性蛋白交联,启动纤维蛋白的形成,诱发翼状胬肉^[7]。在翼状胬肉的发病机制中,纤维蛋白的形成是翼状胬肉中重要组成部分,因此,阐明翼状胬肉中影响纤维蛋白的形成的因素,可能对阐明翼状胬肉的发病机制,起到关键的作用。关于 LOXL-1 催化的交联机制,目前知道,在 LOXL-1 的催化作用下,分泌的胶原蛋白组织组织中含有赖氨酸的肽链,包括赖氨酸

残基和羟赖氨酸残基,以及弹性蛋白中的赖氨酸残基,在氧化作用下,释放一个带正电荷的氨离子,形成了氨基醛的基团,失去一个正电子的氨基醛的基团又可以与邻近未修饰的赖氨酸 NH₂ 端,脱氢形成赖氨酸正亮氨酸,完成了 2 个肽基的交联。另外,上述 2 个氨基醛之间,也可通过醛基的相互反应,形成醛醇缩合物,再完成另外的交联,醛醇缩合物还能在缩合、多个反应的作用下,在不同的肽基氨之间,形成稳固的网线状结构,在细胞外基质中的纤维结缔组织网,稳固了组织和器官。翼状胬肉中,以上的胶原蛋白和弹性交联不断形成,促进了翼状胬肉的发展,阻断以上的交联过程,可能起到阻止翼状胬肉发展的作用。

铜离子是 LOXL-1 重要的辅助基团,铜离子与其结合后,激活 LOXL-1 的活性,可将伯胺氧化成醛,所以,进一步测定翼状胬肉铜离子的含量,对于 LOXL-1 的表达,起到佐证的作用,翼状胬肉中铜离子的增减、置换或者还原翼状胬肉中的铜离子,必然对 LOXL-1 的活性产生影响,影响翼状胬肉中弹性蛋白和胶原蛋白的交联,干扰翼状胬肉的进一步发展。

在翼状胬肉发病机制中,目前尚存在几个方面的未知。①翼状胬肉的触发,在何种条件下,翼状胬肉会发病,目前认为可能与炎症、紫外线照射等关系密切。②人类机体存在的对翼状胬肉的防卫、阻止机制,什么时候开始失去,推测可能与角膜缘干细胞屏障的破坏有关。③翼状胬肉发展的方向,为什么是指向瞳孔,而且一般不超过全部瞳孔,可能与角膜上皮的亚结构损害、瞳孔区角膜上皮远离角膜缘干细胞、角膜上皮修复相对慢有关。④翼状胬肉在发展的过程中,什么因素起到了推动作用,目前的研究推测,LOXL-1 可能在翼状胬肉发展的过程中,起到了重要的推动作用。因此,阻止 LOXL-1 的表达,以及对以上翼状胬肉 4 个过程的防治,可能对翼状胬肉的发生、发展,起到重要的影响。

参 考 文 献:

- [1] 胡玲玲, 汤其群, 黄海艳, 等. 赖氨酰氧化酶的结构和功能[J]. 生命的化学, 2009, 29(2): 291-294.
- [2] 覃瑞. 翼状胬肉发病机制的研究进展[J]. 右江医学, 2015, (6): 758-760.
- [3] 兰秋红, 杨宗灿, 张立达, 等. 类赖氨酰氧化酶 1 在肝细胞癌中的异常表达[J]. 中华消化杂志, 2012, 32(8): 557-559.
- [4] GEMA E, AARON A, JENS H, et al. Non-image forming light

- detection by melanopsin, rhodopsin, and long-middlewave (L/W) cone opsin in the subterranean blind mole rat, spalax ehrenbergi: immunohistochemical characterization, distribution, and connectivity[J]. Front Neuroanat, 2016(10): 61.
- [5] 李剑, 孙启玉, 张学军, 等. 腹股沟直疝及斜疝患者腹横筋膜原纤维蛋白-1、转化生长因子 β 1、类赖氨酸氧化酶 1 的表达研究[J]. 中国现代医学杂志, 2014, 24(6): 47-50.
- [6] KOW N, RIDGEWAY B, KUANG M, et al. Vaginal expression of LOXL1 in premenopausal and postmenopausal women with pelvic organ prolapse[J]. Female Pelvic Med Reconstr Surg, 2016, 22(4): 229-235.
- [7] CORAL K, ANGAYARKANNI A, MADHAVAN J, et al. Lysyl oxidase (LOXL) activity in the ocular tissues and the role of LOXL in proliferative diabetic retinopathy and rhegmatogenous retinal detachment[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2008, 49(11): 4746-4752.

(张蕾 编辑)

《中国现代医学杂志》投稿须知

《中国现代医学杂志》创刊于 1991 年, 期刊号 ISSN1005-8982/CN43-1225/R, 旬刊(2017 年 7 月开始), 系中国科技论文统计源期刊、北大中文核心期刊、中国核心学术期刊(RCCSE)(A-)及湖南省十佳期刊, 被中国知网、万方数据库、超星域出版、美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)等国内外多个检索系统收录, 公开发刊。本刊是中华人民共和国教育部主管的国家级综合性医学学术期刊, 以服务于广大医药卫生科技人员, 促进国内外医学学术交流和医学事业发展为宗旨。由中南大学、中南大学湘雅医院主办, 湖南省湘雅医学期刊社有限公司出版。

本刊刊登的论文内容涉及基础医学、临床医学、预防医学及医学相关学科的新理论、新技术、新成果以及医学信息、动态等。文稿须具有科学性、创新性、实用性。文字要求准确、通顺、精练。本刊设基础研究·论著、临床研究·论著、综述、新进展研究·论著、临床报道、学术报告、病例报告等栏目。学术报告类论文字数控制在 3000 字以内; 病例报告类论文字数控制在 800 字以内。稿件格式为题名、作者姓名、作者单位、邮编、摘要(具体要求见投稿细则)、关键词、正文、参考文献。

本刊对国家级科研成果或阶段性成果及部级以上课题项目的进展报道实行速审快发。一般稿件 2 个月内有评审结果, 录用后等待发表。请作者自行登录本刊网站(www.zgxdyx.com)查询稿件处理结果, 恕不另行通知。稿件发表后, 赠当期杂志 2 本。

投 稿 细 则

1. 文稿力求文字精练、准确、通顺; 文题简明、醒目, 能反映出文章的主题; 勿用不规范字。请作者仔细校对全文, 并认真复核数据。摘要应与正文内药物剂量、病例数、百分比等数据一致。如有错误, 将降低审稿人和编辑对该文真实性的信任度, 导致退稿。	6. 所有栏目需附关键词 3~5 个, 其中临床报道、学术报告和病例报告只需中文关键词, 其余栏目需中英文关键词齐全。
2. 文题中不使用英文缩略语。摘要中一般也不使用英文缩略语, 如因为该词出现多次而需要使用时, 应于首次出现处先写出中文全称, 然后括号内注明英文缩略语(此处不需写出英文全称)。正文中首次使用英文缩略语时, 也应于首次出现处先写出中文全称, 然后括号内注明英文全称及英文缩略语。此规则对已公知、公用的缩略语除外。	7. 照片、图片(黑白原始照片必须清晰, 大小 5 cm × 7 cm), 须在文章内标明其位置, 并附标题, 显微镜下照片应标明放大倍数, 图背面标明作者姓名、文章编号、图序及照片方向(上、下)。
3. 单位介绍信原件, 注明稿件非一稿多投。采用网上投稿方式时, 请将该介绍信照片插入提交的论文 Word 文稿第一页。	8. 所有栏目参考文献须引用 10 条以上, 以近 5 年文献为主。引用期刊的格式为: 作者. 文题. 刊名, 年, 卷(期): 起止页码.; 引用书籍的格式为: 著者. 书名. 版次. 出版地: 出版社, 年份: 起止页码.; 每条参考文献应列出作者姓名, 如超过 3 名者, 则在 3 名作者后写等。中文格式: 解勤之, 陈方平, 蹇在伏, 等. 红细胞收缩: 血小板无力症的可能代偿机制[J]. 中国医学工程, 1998, 8(11): 3-5. 英文格式: SZEMAN B, NAGY G. Changes in cognitive function in patient with diabetes mellitus[J]. Orv Hetil, 2012, 153(9): 323-329.
4. 所有栏目投稿的中英文论文题目、作者姓名及作者单位需齐全(每位作者只标注一个主要单位, 其余的可以作者简介方式在首页左下角注明, 标注通信作者的必须留下通信作者本人的电话或电子邮箱, 以便核实)。	9. 综述第一作者须有副高以上职称证明, 并注明综述人、审校人字样(参考文献 35 条以上)。
5. 栏目对中英文摘要的要求: 论著、临床论著、新进展研究需中英文摘要齐全, 并按目的、方法、结果、结论四要素书写, 200~500 个字。综述需中英文摘要齐全, 不需按四要素书写。临床报道和学术报告只需中文摘要, 病例报告无需中英文摘要。	10. 凡国家、省部级自然科学基金、博士基金、863 计划及国家重点实验室项目的论文, 请注明基金名称及编号并附相关项目批准文件或任务书复印件, 可优先发表。项目主要负责人为通信作者。采用网上投稿方式时, 请将相关证明材料的照片插入提交的论文 Word 文稿最后一页。