

• 基础研究 •

赖氨酰氧化酶与乳腺癌侵袭转移相关因子的研究*

杨华伟, 刘剑仑[△], 李景涛, 刘起鹏, 韦 薇, 唐 玮, 蒋 奕

(广西医科大学附属肿瘤医院乳腺科, 南宁 530021)

摘要:目的 探讨赖氨酰氧化酶(LOX)与乳腺癌侵袭转移相关因子基质金属蛋白酶(MMPs)及低氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)的相关性以及 LOX 在乳腺癌侵袭转移中的可能机制。方法 构建 LOX 基因的特异性慢病毒干扰载体(LOX-RNAi-LV), 稳定转染至乳腺癌细胞 MDA-MB-231, 实验设空白组、干扰组和阴性对照组, 实时定量荧光 PCR 检测 3 组细胞中 LOX、MMP-2、MMP-9 和 HIF-1 α 的表达, Western blot 检测各组 LOX 蛋白的表达; 构建乳腺癌细胞 MDA-MB-231, MCF-7 和 LOX 基因干扰的 MDA-MB-231 裸鼠移植瘤模型, 6 周后测定移植肿瘤的生长及转移情况, SP 免疫组织化学技术检测移植瘤中 LOX、MMP-2、MMP-9 及 HIF-1 α 蛋白的表达情况。结果 转染 LOX-RNAi-LV 后乳腺癌细胞 MDA-MB-231 中的 LOX mRNA 和蛋白被明显抑制, 抑制率为 89.20% 和 82.97%, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 干扰组的 MMP-2、MMP-9 及 HIF-1 α 表达与阴性对照组及空白组比较差异有统计学意义($P < 0.05$); 6 周后裸鼠的 MDA-MB-231 组 LOX、MMP-2、MMP-9 及 HIF-1 α 蛋白表达水平明显高于 LOX 基因干扰组及 MCF-7 组, 相关分析显示, LOX 蛋白与 MMP-2($r = 0.696, P = 0.000$)、MMP-9($r = 0.735, P = 0.000$)、HIF-1 α ($r = 0.737, P = 0.000$) 蛋白呈显著正相关。结论 LOX-RNAi-LV 可有效下调乳腺癌细胞 MDA-MB-231 中 LOX mRNA 和蛋白表达水平; LOX 促进乳腺癌侵袭转移的机制可能与 MMP-2、MMP-9 及 HIF-1 α 的异常表达相关。

关键词: 乳腺肿瘤; 赖氨酰氧化酶; 基质金属蛋白酶; 低氧诱导因子-1 α

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.17.018

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)17-1976-04

The relationships between breast cancer invasion and metastasis related factors and lysyl oxidase*

Yang Huarwei, Liu Jianlun[△], Li Jingtao, Liu Qipeng, Wei Wei, Tang Wei, Jiang Yi

(Department of Breast Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530021, China)

Abstract: Objective To investigate correlation between the lysyl oxidase(LOX), breast cancer invasion, metastasis related factors, matrix metalloproteinases(MMPs) and hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α). **Methods** Lysyl oxidase gene-specific lentiviral RNA interference vector(LOX-RNAi-LV) was designed and synthesized, which was stably transfected into breast cancer cell line MDA-MB-231. The breast cancer cells were divided into three groups: the experimental group, the negative control group and the blank control group. Real-time quantitative PCR analysis of LOX mRNA, MMP-2 mRNA, MMP-9 mRNA and HIF-1 α mRNA expression. Western blot analysis LOX protein expression; To build the breast cancer cell line MDA-MB-231, MCF-7 and LOX genes interfere with MDA-MB-231 nude mice xenograft model. After 6 weeks, measured the transplantation nude mice of tumor growth and metastasis, SP immunohistochemistry chemical detected in xenografts LOX, MMP-2, MMP-9 and HIF-1 α protein expression. **Results** After transfected with LOX-RNAi-LV, LOX mRNA and LOX protein in breast cancer cells MDA-MB-231 was significantly inhibited, inhibition rates were 89.20% and 82.97%, the difference was statistically significant($P < 0.05$); After 6 weeks, MDA-MB-231 group LOX, MMP-2, MMP-9 and HIF-1 α protein expression level was significantly higher than that of LOX gene interference group and MCF-7 group. The correlation analysis showed LOX protein and MMP-2($r = 0.696, P = 0.000$), MMP-9($r = 0.735, P = 0.000$) of HIF-1 α ($r = 0.737, P = 0.000$) protein was significantly positively correlated. **Conclusion** LOX-RNAi-LV can be effectively lowered breast cancer cells MDA-MB-231 of LOX mRNA and protein expression levels; LOX promote breast cancer invasion and metastasis mechanism may be related to MMP-2, MMP-9 and HIF-1 α abnormal expression.

Key words: breast neoplasms; lysyl oxidase; matrix metalloproteinases; hypoxia inducible factor-1 α

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一, 其复发转移是乳腺癌死亡的最主要原因^[1]。近年来的研究发现, 赖氨酰氧化酶(lysyl oxidase, LOX)的表达异常与乳腺癌的侵袭转移密切相关^[2]。但 LOX 在乳腺癌侵袭转移中的作用机制尚不清楚。本研究组前期结果提示, LOX 可以促进乳腺癌的侵袭转移, LOX 基因在高侵袭潜能的乳腺癌细胞 MDA-MB-231 中高表达, 在低侵袭性 MCF-7 细胞中低表达^[3]。本研究通过构建 LOX 慢

病毒干扰载体(LOX-RNAi-LV), 抑制高侵袭转移乳腺癌细胞 MDA-MB-231 中 LOX 基因表达, 并检测 LOX、基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinases-2, MMP-2)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)和低氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)的表达变化, 通过乳腺癌裸鼠移植瘤模型分析 LOX 蛋白与 MMP-2、MMP-9 及 HIF-1 α 蛋白相关性, 探讨 LOX 在乳腺癌侵袭转移中可能的作用机制。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂 人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 购于南京凯基生物技术有限公司;人乳腺癌 MCF-7 细胞由广西医科大学基础实验室馈赠;LOX-RNAi-LV 由上海吉凯基因化学技术有限公司构建包装;Trizol Reagent 购自美国 Invitrogen 公司;Quant SYBR Green PCR 试剂盒为北京 TianGen 公司产品;PCR 引物由上海生工生物工程有限公司合成;荧光定量 PCR 为美国 Bio-Rad,iQTM 5 Multicolor;LOX 兔抗人多克隆抗体购自美国 Novus 生物公司;病理图像分析仪 DMR+550 为德国莱卡公司。

1.2 LOX-RNAi-LV 的构建 由 Ambition 公司设计、合成针对人 LOX 基因的 siRNA,序列如下,上游引物:GGA ACU UUA GUG AAA CAU AAU,下游引物:UAU GUU UCA CUA AAG UUC CAG。合成含干扰序列的双链 DNA oligo,其两端含酶切位点粘端,直接连入酶切后的载体 pGCL-GFP (含 U6 启动子)上。验证后进行病毒包装,检测滴度和复感染指数后进行细胞转染干扰实验。

1.3 细胞培养及转染 人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 培养于含 10%胎牛血清的高糖 DMEM 培养基中,37℃、5% CO₂ 的恒温箱中培养。将处于对数生长期的 3×10⁵ 个细胞/孔接种于 6 孔板中,待细胞覆盖率达 70%时进行转染,干扰组加入 1.5×10⁸ TU/mL 病毒液 LOX-RNAi-LV 30 μL,阴性对照组加入 1.5×10⁸ TU/mL GFP-NC-LV 30 μL,空白对照组除不作转染外其余处理与以上各组相同。每组设 3 个平行孔,分别于感染 24、48、72、96 h 后,观察荧光表达情况。

1.4 转染 72 h 后实时荧光定量 PCR 检测 LOX mRNA, MMP-2 mRNA, MMP-9 mRNA 及 HIF-1α mRNA 表达 Trizol 法提取各组细胞总 RNA,检测细胞总 RNA 浓度,取 2 μg 总 RNA 逆转录合成 cDNA。引物序列:MMP-2 上游引物:TGC CCA AGA ATA GAT GCT GAC,下游引物:GAA AGG AGA AGA GCC TGA AGT G,长度 160 bp;MMP-9 上游引物:CTT CTG CCC GGA CCA AGG ATA C,下游引物:TTC AGG GCG AGG ACC ATA GAG G,长度 187 bp;HIF-1α,上游引物:CCA GTT ACG TTC CTT CGA TCA GT,下游引物:TTT GAG GAC TTG CGC TTT CA,长度 74 bp;LOX 上游引物:CAG GCA CCG ACC TGG ATA TGG,下游引物:CGT ACG TGG ATG CCT GGA TGT AGT,长度 193 bp;β-actin 上游引物:AGT TGC GTT ACA CCC TTT CTT G,下游引物:CAC CTT CAC CGT TCC AGT TTT,长度 148 bp。Real-time PCR 按 Quant SYBR Green PCR 试剂盒说明书操作,每例样品各做 3 个平行管,在实时荧光定量基因扩增仪进行扩增。反应条件:MMP-2:预变性 95℃ 2 min,变性 95℃ 30 s,退火 58℃ 30 s,40 个循环,延伸 72℃ 31 s。MMP-9:预变性 95℃ 5 min,变性 95℃ 45 s,退火 59℃ 30 s,40 个循环,延伸 72℃ 31 s。HIF-1α:预变性 95℃ 3 min,变性 95℃ 30 s,退火 57℃ 30 s,40 个循环,延伸 72℃ 31 s。LOX:预变性 94℃ 3 min,变性 94℃ 30 s,退火 59℃ 30 s,40 个循环,72℃ 31 s。读取 Ct 值,参照文献比较阈值法计算^[4]:首先按公式“ $\Delta Ct = Ct \text{ 平均值 (LOX)} - Ct \text{ 平均值 (}\beta\text{-actin)}$ ”分别计算对照组和干扰组的 ΔCt ,再按公式“ $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct \text{ 干扰组} - \Delta Ct \text{ 对照组}$ ”得到“ $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ”代表目的基因相对表达量。 $(1 - 2^{-\Delta\Delta Ct}) \times 100\%$ 为 LOX 基因表达抑制率。

1.5 转染 72 h 后 Western blot 检测 LOX 蛋白表达 提取 MDA-MB-231 细胞总蛋白,操作步骤按照 RIPA 裂解液使用说明进行,并用 BCA 法测定蛋白浓度。取 10 μL 约 30 μg 的总蛋白进行 10% SDS-PAGE 电泳后,湿法转至 PVDF 膜上,一抗、二抗标记,电化学发光法显影。LOX 蛋白与 β-actin 蛋白条带的灰度比值反映 LOX 蛋白的相对表达水平。

1.6 乳腺癌裸鼠原位移植瘤模型的建立 实验裸鼠随机分为 3 组,每组 20 只,分别接种 MDA-MB-231、MCF-7 及干扰 LOX 基因表达的 MDA-MB-231 细胞^[3]。取对数生长的上述 3 种细胞,细胞浓度为 1.0×10⁸/mL。抽取 3 种细胞悬液各 0.1 mL 分别注入 60 只裸鼠的乳腺脂肪垫内。接种后 6 周,裸鼠颈椎脱位致死做后续试验。

1.7 免疫组织化学法检测 LOX、MMP-2、MMP-9 及 HIF-1α 蛋白表达 免疫组织化学采用标记的链霉素抗生物素蛋白-生物素免疫染色 (streptavidin peroxidase, SP) 方法,实验步骤按说明书进行。以已知阳性切片作为阳性对照,以 PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.8 免疫组织化学染色结果判断 LOX、MMP-2 及 MMP-9 染色以细胞浆出现棕黄色颗粒为阳性,HIF-1α 蛋白的表达部位主要在细胞核,呈棕黄色颗粒为阳性。随机选择 10 个高倍 (×400)视野,根据肿瘤细胞着色数量多少,半定量分为 4 级:无着色为阴性(-),阳性细胞小于 25%为弱阳性,阳性细胞 25%~50%为中度阳性(++),阳性细胞大于 50%为强阳性(+++)。

1.9 统计学处理 应用 SPSS13.0 软件对数据进行统计学分析,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用配对样本 *t* 检验、Spearman 等级相关、两独立样本比较的 Wilcoxon 秩和检验、多个独立样本比较 Kruskal-Wallis H 秩和检验进行分析,检验水准 $\alpha = 0.05$,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 慢病毒转染效率的检测 LOX-RNAi-LV 转染乳腺癌细胞株 MDA-MB-231,60 h 后有 GFP 荧光表达,72 h 后表达明显增强,荧光表达率达 90%。

2.2 实时荧光定量 PCR 检测各组 LOX mRNA、MMP-2 mRNA、MMP-9 mRNA 及 HIF-1α mRNA 表达 样品 mRNA 经逆转录,实时荧光定量 PCR 仪分析获得目的基因和内参 β-actin 扩增片段的 Ct 值、扩增曲线和融解曲线。转染 72 h 后,转染组 LOX mRNA 相对表达量与空白组比较,干扰组的 LOX mRNA 被抑制,抑制率达 89.2%,经方差分析,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。实时荧光定量 PCR 结果显示,干扰组 MMP-2、MMP-9 mRNA 相对表达量均明显低于阴性组和空白组,差异有统计学意义 ($P = 0.000$)。

2.3 Western blot 检测各组 LOX 蛋白表达 转染 72 h 后,干扰组的 LOX 蛋白水平与空白组和阴性对照组比较明显被抑制,抑制率达 82.97% (图 1、表 1)。

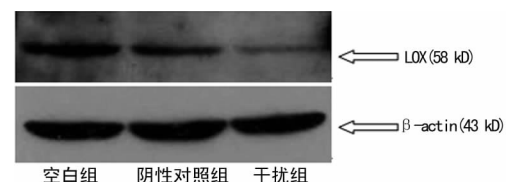


图 1 Western blot 检测转染 LOX-RNAi-LV 后各组 LOX 蛋白的表达情况

表 1 各组 LOX 蛋白表达水平($\bar{x}\pm s$)	
组别	条带光密度相对比值 LOX/ β -actin
转染组	0.156 $\pm$ 0.004*
空白组	0.916 $\pm$ 0.007
阴性对照组	0.696 $\pm$ 0.020

*: $P<0.05$,与阴性对照组及空白组比较。

2.4 免疫组织化学法检测 LOX 及相关因子的蛋白表达 取

表 2 LOX、MMP-2、MMP-9、HIF-1 α 蛋白在 3 组的表达情况比较

项目	组别	—	+	++	+++	平均秩次	χ^2	<i>P</i>
LOX	MDA-MB-231 组	0	3	7	10	47.45	32.176	0.000
	MDA-MB-231(LOX 干扰)组	10	9	1	0	18.85		
	MCF-7 组	6	10	4	0	25.20		
MMP-2	MDA-MB-231 组	0	1	4	15	49.38	38.853	0.000
	MDA-MB-231(LOX 干扰)组	9	10	1	0	18.93		
	MCF-7 组	6	11	3	0	23.20		
MMP-9	MDA-MB-231 组	0	0	7	13	49.45	39.245	0.000
	MDA-MB-231(LOX 干扰)组	7	12	1	0	18.43		
	MCF-7 组	5	10	5	0	23.63		
HIF-1 α	MDA-MB-231 组	0	2	6	12	47.75	32.008	0.000
	MDA-MB-231(LOX 干扰)组	7	11	2	0	21.18		
	MCF-7 组	7	10	2	1	22.58		

2.4.2 MMP-2 蛋白在裸鼠移植瘤组织中的表达 MMP-2 蛋白主要表达在细胞浆(图 3)。MMP-2 蛋白在 MDA-MB-231 组、MDA-MB-231(LOX 干扰)组、MCF-7 组中的表达情况,见表 2。

2.4.3 MMP-9 蛋白在裸鼠移植瘤组织中的表达 MMP-9 蛋白主要表达在细胞浆。MMP-9 蛋白在 MDA-MB-231 组、MDA-MB-231(LOX 干扰)组、MCF-7 组中的表达情况,见表 2。

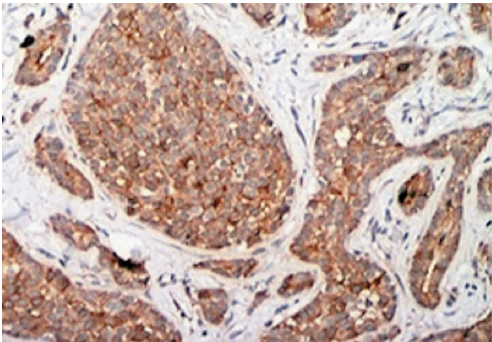


图 2 裸鼠移植瘤 LOX(+++)阳性表达免疫组织化学影像学表现(SP,×400)

2.4.4 HIF-1 α 蛋白在裸鼠移植瘤组织中的表达 HIF-1 α 蛋白的表达部位主要在细胞核。HIF-1 α 蛋白在 MDA-MB-231 组、MDA-MB-231(LOX 干扰)组、MCF-7 组中的表达情况,见表 2。

2.5 LOX 蛋白与 MMP-2、MMP-9 及 HIF-1 α 蛋白的相关性

体内裸鼠移植瘤标本,用免疫组织化学法分别检测 MDA-MB-231 组、MDA-MB-231(LOX 干扰)组、MCF-7 组中 LOX、MMP-2、MMP-9 及 HIF-1 α 蛋白的表达情况。

2.4.1 LOX 蛋白在裸鼠移植瘤组织中的表达 LOX 蛋白主要表达于胞核、胞浆中出现棕色颗粒为阳性(图 2),LOX 蛋白在 MDA-MB-231 组、MDA-MB-231(LOX 干扰)组、MCF-7 组中表达情况,见表 2。

Spearman 相关分析显示 LOX 蛋白与 MMP-2($r=0.696$, $P=0.000$)、MMP-9($r=0.735$, $P=0.000$)、HIF-1 α ($r=0.737$, $P=0.000$)蛋白呈显著正相关。

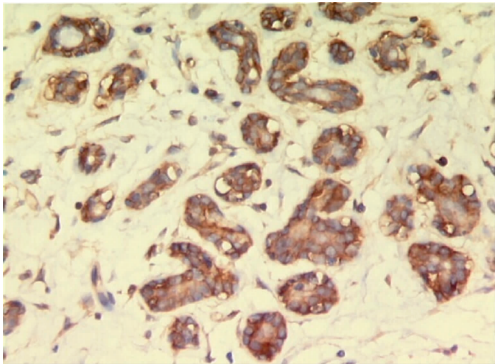


图 3 裸鼠移植瘤 MMP-2(+++)阳性表达免疫组织化学影像学表现(SP,×400)

3 讨 论

LOX 是一种铜依赖性氧化酶,是细胞外基质中胶原与弹性蛋白聚合起始阶段并稳定细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的关键酶^[5]。研究表明 LOX 表达与乳腺癌的复发转移有关^[6],在乳腺癌、食管癌、头颈部恶性肿瘤和黑色素瘤中高表达^[7-9]。肿瘤细胞中表达上调的 LOX,能够促进肿瘤细胞扩散到其他组织器官,肿瘤组织缺氧提示癌细胞的生长和分裂速度快,HIF-1 可诱导 LOX mRNA 活性增高,可能是导致癌细胞侵袭转移的主要原因^[10]。肿瘤细胞实现其侵袭转移必须解除细胞外基质的束缚,这有赖于基质金属蛋白酶(matrix metallo-

proteinases, MMPs)、组织蛋白酶 (cathepsins) 等, MMP-2、MMP-9 能降解Ⅳ型胶原, MMPs 促进乳腺癌浸润和转移的机制与降解细胞外基质、促进血管生成及调节细胞黏附有关, 而 MMP-2 和 MMP-9 蛋白的高表达使其相应的特异性抑制剂的表达失去平衡, 导致基底膜的主要成分(Ⅳ型、Ⅶ型、Ⅹ型胶原和明胶)被降解^[11-12]。Erler 等^[13-14]不但发现侵袭转移性乳腺癌细胞株中 LOX 表达上调, LOX 反义寡聚核苷酸或 LOX 小分子抑制剂能抑制乳腺癌细胞株的侵袭能力, 还发现 LOX 不仅介导了侵袭转移性乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 对胶原 I 基质的侵袭作用, 而且引起 MMPs 的活性增强, 同时发现乳腺癌、头颈癌患者肿瘤组织的低氧状况与 LOX 表达水平明显相关, 认为 LOX mRNA 通过 LOX 启动子中功能性低氧反应元件受到 HIF-1 α 的调控。LOX 可能是一个低氧反应基因^[15]。

本研究采用 LOX-RNAi-LV 稳定转染 MDA-MB-231 细胞后, 干扰组 LOX mRNA 和 LOX 蛋白与阴性对照组和空白对照组比较差异有统计学意义, 说明 LOX-RNAi-LV 转染后 MDA-MB-231 细胞 LOX mRNA 和 LOX 蛋白表达受到显著抑制。同时, 实时荧光定量 PCR 检测结果显示, 干扰组 MMP-2、MMP-9 及 HIF-1 α 及基因表达与空白组和阴性对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 说明抑制了 LOX 的表达其 MMP-2 及 MMP-9、HIF-1 α 及 Ki-67 的表达同时也受到了明显的抑制; 乳腺癌细胞 MDA-MB-231、MCF-7 和 LOX 基因干扰的裸鼠移植瘤模型中 MDA-MB-231 组 LOX、MMP-2、MMP-9 及 HIF-1 α 蛋白表达水平明显高于 LOX 基因干扰组及 MCF-7 组, 而且 LOX 的表达与 MMP-2、MMP-9 及 HIF-1 α 成显著正相关。

作者推测可能是由于 MMPs 水解 ECM, 松解了致密的胶原基质结构, 促进肿瘤细胞移行, 而 LOX 的过表达改变了肿瘤细胞外基质的结构, 激活某些特定信号传导通路, 上调了 MMPs 的表达, MMPs 通过降解基底膜, 去除了肿瘤细胞侵蚀和转移的物理屏障, 破坏了血管壁的完整性, 同时增加了微血管的通透性, 介导内皮细胞迁移和侵蚀, 诱导新生血管形成, 从而促进了乳腺癌的侵袭转移; 而且低氧环境影响下上调 LOX 的表达, 刺激乳腺癌细胞发生侵袭转移。LOX 和 MMP-2、MMP-9 及 HIF-1 α 转移因子可能具有协同促进作用, 促进了乳腺癌的侵袭转移。因此, 进一步探索 LOX 在乳腺癌侵袭转移中的可能作用机制, 将有助于更好地阐述乳腺癌的生物学行为。

参考文献:

- [1] Coughlin SS, Ekwueme DU. Breast cancer as a global health concern[J]. Cancer Epidemiol, 2009, 33(5): 315-318.
- [2] Patani N, Jiang W, Newbold R, et al. Prognostic implications of carboxyl-terminus of Hsc70 interacting protein and lysyl-oxidase expression in human breast cancer[J]. J Carcinog, 2010, 12(9): 975-978.
- [3] 杨华伟, 刘剑仑, 耿莹, 等. siRNA 干扰 LOX 基因对乳腺

- 癌细胞株侵袭性影响的研究[J]. 山东医药, 2010, 50(1): 8-9.
- [4] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.
- [5] Rodríguez C, Rodríguez-Sinovas A, Martínez-González J. Lysyl oxidase as a potential therapeutic target[J]. Drug News Perspect, 2008, 21(4): 218-224.
- [6] Bondareva A, Downey CM, Ayres F, et al. The lysyl oxidase inhibitor, beta-aminopropionitrile, diminishes the metastatic colonization potential of circulating breast cancer cells[J]. PLoS One, 2009, 4(1): 56-20.
- [7] Le QT, Harris J, Magliocco AM, et al. Validation of lysyl oxidase as a prognostic marker for metastasis and survival in head and neck squamous cell carcinoma: Radiation Therapy Oncology Group trial 90-03[J]. J Clin Oncol, 2009, 27(26): 4281-4286.
- [8] 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[J]. Ann Surg Oncol, 2009, 16(9): 2494-2501.
- [9] Aboubih DA, Di Cesare S, Orellana ME, et al. Lysyl oxidase expression and inhibition in uveal melanoma[J]. Melanoma Res, 2010, 20(2): 97-106.
- [10] Choi JY, Jana YS, Min SY, et al. Overexpression of MMP-9 and HIF-1 α in breast cancer cells under hypoxic conditions[J]. J Breast Cancer, 2011, 14(2): 88-95.
- [11] Barker HE, Chang J, Cox TR, et al. LOXL2-mediated matrix remodeling in metastasis and mammary gland involution[J]. Cancer Res, 2011, 71(5): 1561-1572.
- [12] Levental KR, Yu H, Kass L, et al. Matrix crosslinking forces tumor progression by enhancing integrin signaling[J]. Cell, 2009, 25(5): 891-906.
- [13] Erler JT, Giaccia AJ. Lysyl oxidase mediates hypoxic control of metastasis[J]. Cancer Res, 2006, 66(11): 1238-1241.
- [14] Erler JT, Bennewith KL, Nicolau M, et al. Lysyl oxidase is essential for hypoxia-induced metastasis[J]. Nature, 2006, 440(10): 1222-1226.
- [15] Pez F, Dayan F, Durivault J, et al. The HIF-1-inducible lysyl oxidase activates HIF-1 via the akt pathway in a positive regulation loop and synergizes with HIF-1 in promoting tumor cell growth[J]. Cancer Res, 2011, 71(5): 1647-1657.

(收稿日期: 2012-12-08 修回日期: 2013-02-10)