



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.08.006
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2019.08.006
Chinese Journal of General Surgery, 2019, 28(8):943-951.

· 基础研究 ·

赖氨酰氧化酶样蛋白 2 在胆管癌中的表达以及与血管内皮生长因子 A 及血管生成的关系

彭滔^{1,2}, 李大江¹, 王曙光¹

(1. 陆军军医大学第一附属医院肝胆外科研究所, 重庆 400038; 2. 长江大学附属第一医院肝胆外科, 湖北荆州 434000)

摘要

目的: 探讨赖氨酰氧化酶样蛋白 2 (LOXL2) 在胆管癌中的表达以及与胆管癌血管生成的关系。

方法: 下载 GEO 数据库中相关数据, 比较胆管癌组织和癌旁组织 LOXL2 的 mRNA 表达差异; 通过基因集富集分析法分析 LOXL2 在胆管癌中的功能; 分析各数据集中 LOXL2 与血管内皮生长因子 A (VEGFA) 表达的关系。通过 Western blot、qRT-PCR 和 ELISA 检测下调或上调胆管癌细胞株中 LOXL2 的表达后, VEGFA 的表达和分泌水平变化。用干扰或过表达 LOXL2 的胆管癌细胞的培养条件培养基培养人脐静脉内皮细胞 (HUVECs) 后, 观察其管腔形成情况。

结果: GEO 数据库分析结果显示, LOXL2 在癌组织中的表达明显比癌旁高 ($P < 0.05$); LOXL2 可能参与了胆管癌血管生成; 各 GEO 数据集中 LOXL2 与 VEGFA 的表达均呈正相关 ($r = 0.320、0.243、0.234、0.665$, 均 $P < 0.05$)。在胆管癌细胞中, 干扰 LOXL2 后 VEGFA 的表达及分泌水平均明显下降, 过表达 LOXL2 后 VEGFA 的表达和分泌水平均明显升高 (均 $P < 0.05$)。干扰 LOXL2 的胆管癌细胞的培养条件培养基培养后 HUVECs 管腔形成明显减少, 而过表达 LOXL2 的条件培养基培养后 HUVECs 管腔形成明显增加 (均 $P < 0.05$)。

结论: LOXL2 在胆管癌中的表达升高, 并可能通过上调 VEGFA 的表达促进胆管癌的血管生成。

关键词

胆管肿瘤; 赖氨酰氧化酶样蛋白 2; 血管内皮生长因子 A; 新生血管化, 病理性

中图分类号: R735.8

Expression of lysyl oxidase-like 2 in cholangiocarcinoma and its relations with vascular endothelial growth factor A and angiogenesis

PENG Tao^{1,2}, LI Dajiang¹, WANG Shuguang¹

(1. Institute of Hepatobiliary Surgery, Southwest Hospital, Army Medical University, Chongqing 400038, China; 2. Department of Hepatobiliary Surgery, the First Affiliated Hospital of Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434000, China)

Abstract

Objective: To investigate the expression of lysyl oxidase-like 2 (LOXL2) in cholangiocarcinoma (CCA) and its association with angiogenesis in CCA.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81572456)。

收稿日期: 2019-02-11; **修订日期:** 2019-07-19。

作者简介: 彭滔, 陆军军医大学第一附属医院博士研究生, 主要从事胆管癌侵袭转移机制方面的研究。

通信作者: 王曙光, Email: sgwangxnyy@sina.com

Methods: The relevant data were downloaded from the GEO database, and then, the difference in LOXL2 mRNA expression between CCA tissue and tumor adjacent tissue was compared; the potential function of the LOXL2 in CCA was determined by gene set enrichment analysis; the relationship between the expressions of LOXL2 and vascular endothelial growth factor A (VEGFA) was analyzed in each dataset. The changes in expression and secretion level of VEGFA in CCA cells after down- or up-regulating LOXL2 expression were detected by Western blot, qRT-PCR and ELISA, respectively. The human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) were cultured with the conditioned medium from CCA cells with LOXL2 interference or overexpression, and then, the tube formation abilities of the HUVECs were observed.

Results: The results of GEO database analyses showed that the LOXL2 expression in CCA tissue was significantly higher than that in tumor adjacent tissue ($P<0.05$); LOXL2 was possibly associated with angiogenesis in CCA; there was a significant positive correlation between LOXL2 expression and VEGFA expression in each GEO dataset ($r=0.320, 0.243, 0.234$ and 0.665 , all $P<0.05$). In CCA cells, the VEGFA expression and secretion level of LOXL2 were significantly decreased after LOXL2 interference, and were significantly increased after LOXL2 overexpression (all $P<0.05$). The number of tube formation was significantly decreased in HUVECs after culture with the conditioned medium from CCA with LOXL2 knockdown, and was significantly increased in HUVECs after culture with the conditioned medium from CCA with LOXL2 overexpression (both $P<0.05$).

Conclusion: LOXL2 expression is increased in CCA and it may promote angiogenesis in CCA through upregulating VEGFA expression.

Key words

Bile Duct Neoplasms; Lysyl Oxidase-Like 2; Vascular Endothelial Growth Factor A; Neovascularization, Pathologic

CLC number: R735.8

胆管癌 (cholangiocarcinoma, CCA) 是起源于肝内外胆树上皮且具有高度侵袭性的恶性肿瘤, 尽管发生率不高, 但是病死率高^[1-2]。尽管在手术方面取得了很大进步, 但是5年生存率仍然较低^[3]。因此寻找新的靶点为治疗胆管癌提供新的策略。赖氨酰氧化酶样蛋白2 (lysyl oxidase-like 2, LOXL2) 是细胞外基质修饰酶的赖氨酰氧化酶家族成员之一。LOXL2最初是从人成纤维细胞分离出来, 并参与细胞外基质的重塑。各项研究表明 LOXL2高表达促进肿瘤的侵袭转移以及与患者的预后密切相关^[4-6]。课题组先前通过免疫组化证实了 LOXL2在胆管癌组织中高表达, 并促进了胆管癌的侵袭转移^[4], 但是其下游机制不是很清楚, 为了探索 LOXL2在胆管癌中的作用机制, 本研究进一步通过 GEO 数据库证实 LOXL2在胆管癌中表达情况, 利用 GSEA 分析 LOXL2与血管形成的关系, 在 GEO 数据中分析 LOXL2与血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor A, VEGFA) 表达的关系, 并在体外实验通过干预 LOXL2 观察

VEGA 的表达变化及其分泌水平对血管形成影响。

1 材料与方 法

1.1 数据库分析

1.1.1 数据来源 胆管癌数据从公共数据库 GEO 下载 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>, GSE76297, GSE107943, GSE26566, GSE89749)。

1.1.2 基因集富集分析 (gene set enrichment analysis, GSEA) GSEA 用来评估一个预先定义的基因集的基因在与表型相关度排序的基因表中的分布趋势, 从而判断其对表型的贡献^[7]。根据 GSE76297 数据库中癌组织 LOXL2 mRNA 的表达中位数划分为高低两组, 选取 MsiDB (Molecular Signatures Database v6.2) 中与血管生成相关的基因集 (<http://software.broadinstitute.org/gsea/msigdb/index.jsp>)。GSEA 分析使用 GSEA2.0.9 (<http://www.broadinstitute.org/gsea>)。根据划

分的 LOXL2 mRNA 高低两组通过 GSEA 软件鉴别 LOXL2 与血管生成之间的关系。

1.2 细胞实验

1.2.1 细胞培养及病毒转染 QBC939 和 RBE 胆管癌细胞系由本实验室储存, 人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVECs) 购自美国 ATCC 细胞库, 培养基为含 10% 胎牛血清 (ZETA, 日本) 的 RPMI 1640, 细胞培养在 5%CO₂、37 °C 的培养箱中。靶向 LOXL2 的干扰病毒和过表达病毒购自吉玛公司 (上海)。细胞铺 6 孔板过夜后, 加入 10⁷ (100 μL) 病毒悬液过夜后扩增转染的细胞经流式筛选 (mCherry 荧光)。

1.2.2 Western blot 检测 使用加有蛋白酶抑制剂 (罗氏, 美国) RIPA 裂解液 (Sigma-Aldrich, 美国) 提取细胞总蛋白, 细胞刮收集贴壁细胞, 冰上裂解 15 min, 14 000 r/min, 4 °C 离心 15 min, 弃沉淀, 收集上清。BCA 法测定浓度, 100 °C 变性 10 min。经 SDS-PAGE 转至 PVDF 膜, 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h, 分别加入 GAPDH 一抗 (1:10 000, 三鹰)、LOXL2 (1:2 000, Abcam)、VEGFA (1:2 000, Abcam) 4 °C 封闭过夜, PBST 漂洗 10 min × 3 次, 加入二抗 (1:4 000, Abcam) 室温孵育 2 h, PBST 漂洗 10 min × 3 次。ECL 发光显影成像。

1.2.3 实时定量 PCR (qRT-PCR) 检测 总 RNA 提取根据 Eastep Super 试剂盒方案进行 (Promega, USA)。在 CFX96 实时定量仪器 (Bio-Rad, 美国) 中使用 SYBR 试剂 (Takara, 日本) 进行实时定量 PCR。实验重复 3 次。LOXL2 正向引物: 5'-TCC TCA ATG CGG AGA TGG TG-3', 反向引物: 5'-CTG TGA CAG TCG TGC CAG AT-3'; VEGFA 正向引物: 5'-GGG CAG AAT CAT CAC GAA GT-3', 反向引物: 5'-TGG TGA TGT TGG ACT CCT CA-3'; GAPDH 正向引物: 5'-AGA AGG CTG GGG CTC ATT TG-3', 反向引物: 5'-AGG GGC CAT CCA CAG TCT TC-3'。

1.2.4 酶联免疫吸附实验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 将胆管癌细胞接种于 6 孔板中, 过夜后在无血清培养基中培养 24 h, 收集条件培养基, 根据 VEGFA ELISA 试剂盒 (Abebio, 美国) 方案进行。

1.2.5 血管形成检测 将基质胶加入到 24 孔板中, 含有 1×10⁵ 个 HUVECs 的条件培养基 500 μL 加入到每孔中, 培养箱中孵育 8 h。倒置显微镜观察形成的血管数并拍照 (100 倍), 每个样品随机选取 3 个不同的视野拍照, 用 ImageJ 软件计算形成的血管数, 并比较各组之间的差异。

1.3 统计学处理

实验结果均采用 IBM SPSS 22.0 软件进行统计学分析。连续性变量采用双尾 *t* 检验。LOXL2 和 VEGFA 之间的相关性分析采用线性回归分析。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LOXL2 在人胆管癌组织中的表达

通过下载 GEO 数据, 进行分析胆管癌和癌旁 LOXL2 的表达关系, 在 GSE76297 和 GSE107943 数据库中分析发现, LOXL2 在胆管癌组织中明显高于癌旁组织 (均 *P*<0.0001)。并且在成对的癌和癌旁样本中, 癌组织中的 LOXL2 也明显高于癌旁组织 (均 *P*<0.0001) (图 1)。

2.2 GSEA 分析

下载 GSE76297 数据库数据, 通过 GSEA 分析 LOXL2 参与血管形成相关的基因集, 发现 LOXL2 参与两个血管形成的基因集 (NES=1.583, 名义 *P*=0.012; NES=1.632, 名义 *P*=0.002) (图 2)。

2.3 LOXL2 的表达与 VEGFA 表达相关性分析

通过 GSE26566、GSE76297、GSE89749 和 GSE107943 数据库分析发现, LOXL2 的表达与 VEGFA 的表达正相关 (*r*=0.320、0.243、0.234、0.665, 均 *P*<0.05) (图 3)。

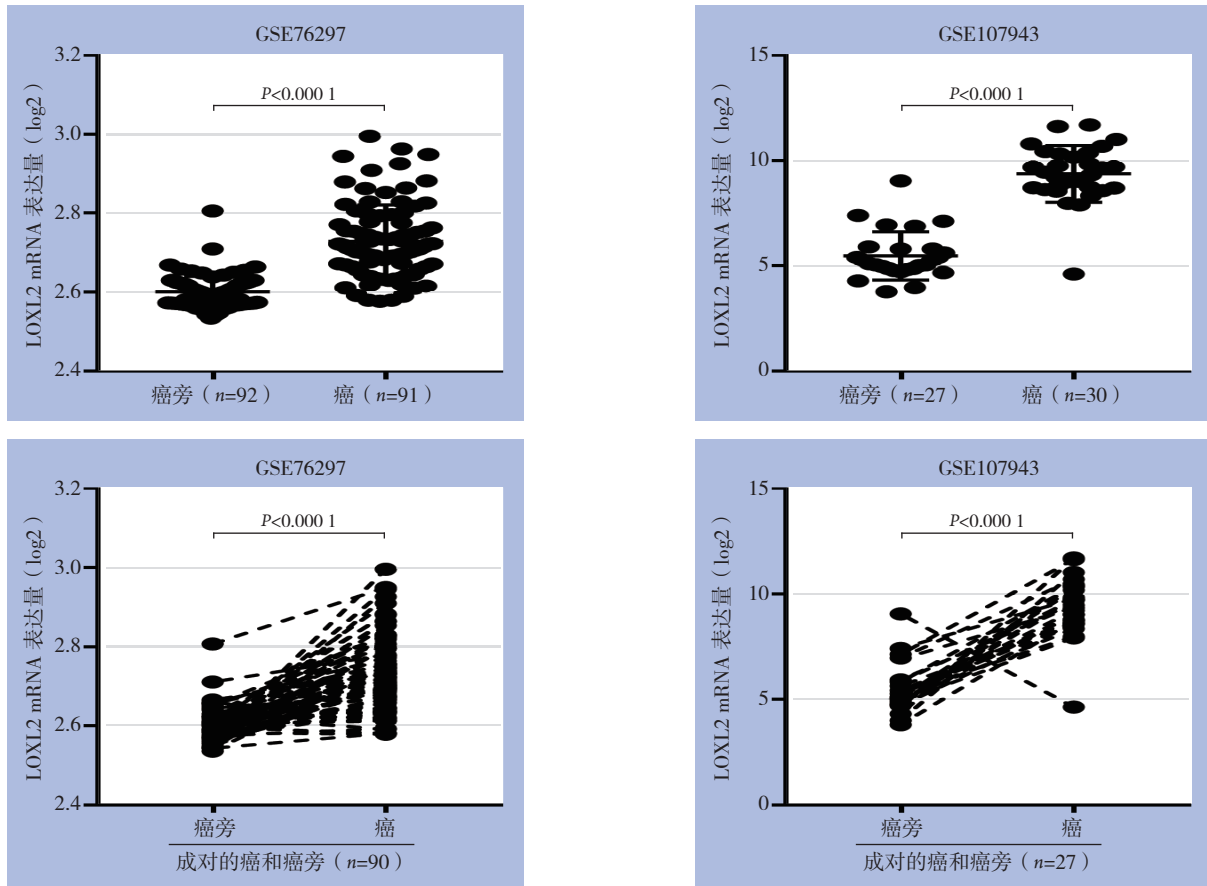


图 1 LOXL2 在胆管癌和癌旁组织中的表达

Figure 1 Expressions of LOXL2 in CCA and tumor adjacent tissues

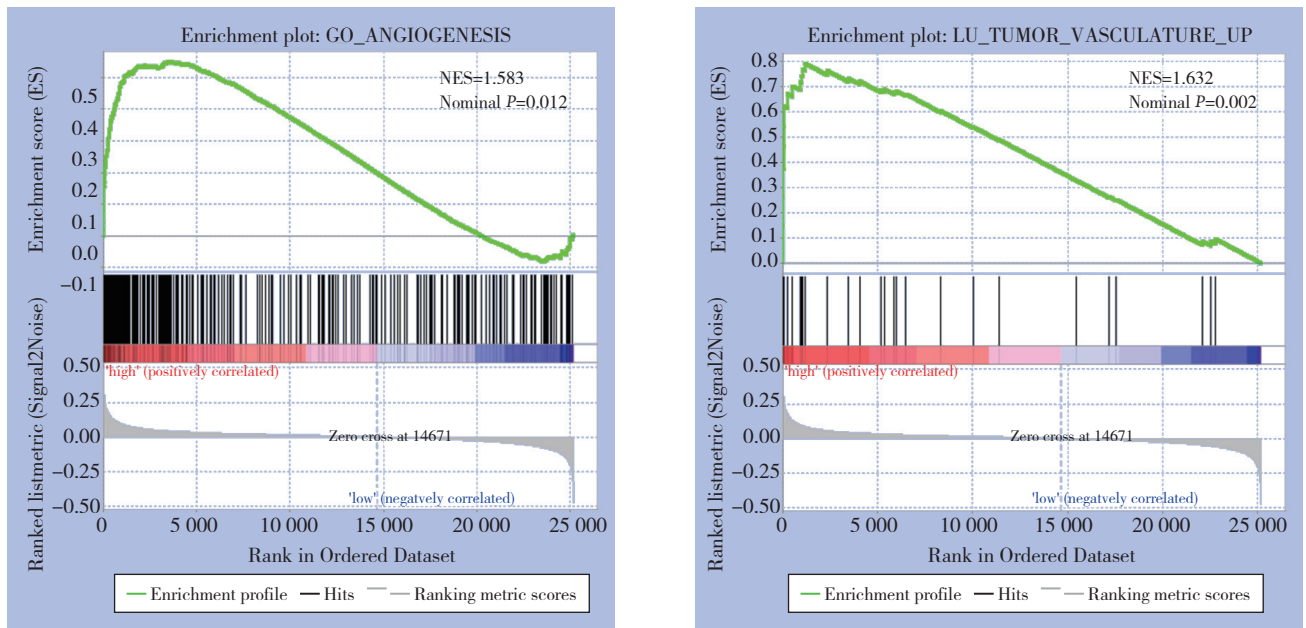


图 2 GSE76297 数据的 GSEA 分析

Figure 2 GSEA analysis using GSE76297 data

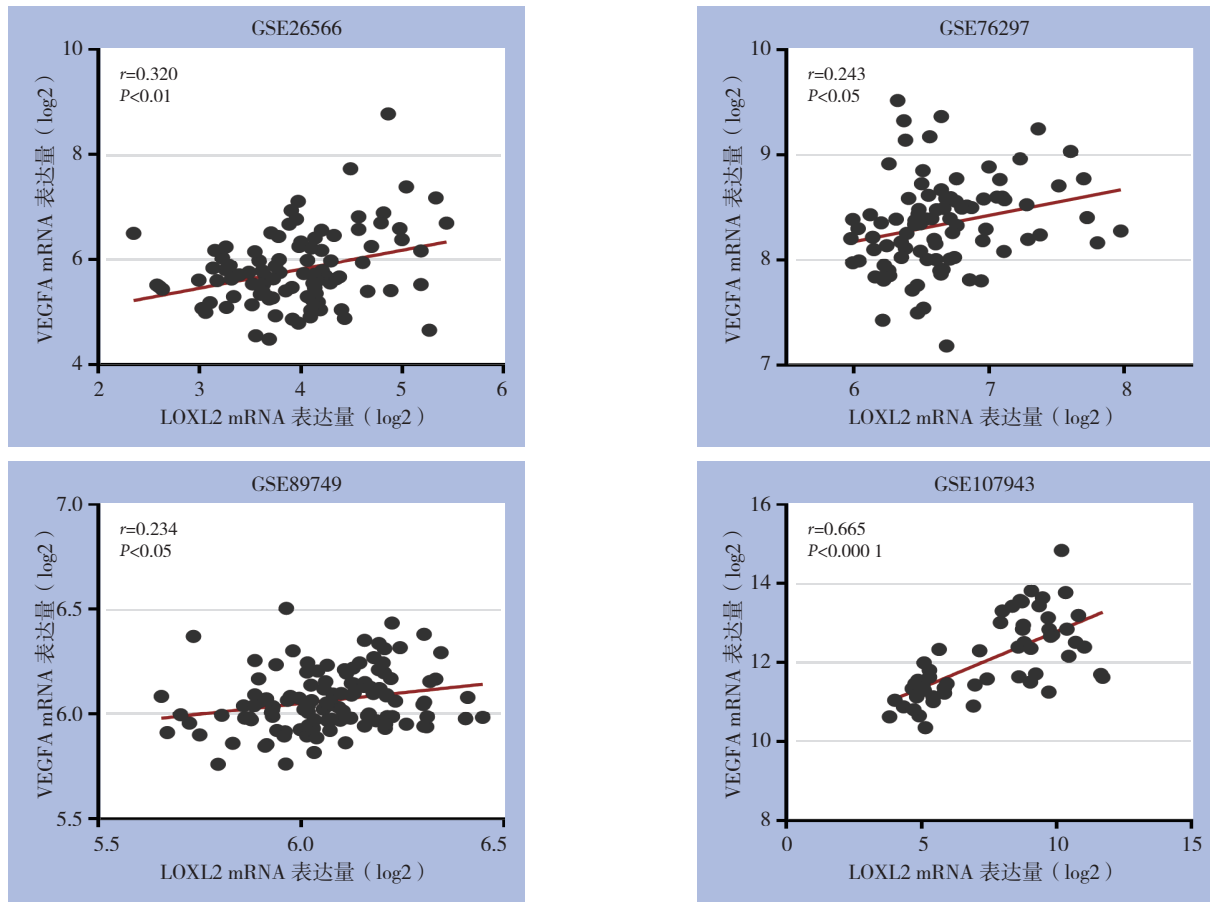


图3 在GEO数据中LOXL2和VEGFA的表达关系

Figure 3 Correlation between LOXL2 and VEGFA in GEO datasets

2.4 干预LOXL2后VEGFA的表达的变化

分析GEO数据发现LOXL2与VEGFA的正相关,故推测LOXL2可能调控VEGFA的表达,笔者前期的研究表明LOXL2蛋白在QBC939比RBE细胞要高^[7]。因此选择了在QBC939细胞转染干扰LOXL2病毒,RBE细胞转染过表达LOXL2病毒,为了提高转染效率,过表达和干扰的细胞经过流式筛选,荧光显微镜观察过表达和干扰的细胞荧光(图4)。通过Western blot和RT-PCR分析发现在QBC939细胞干扰LOXL2后,VEGFA的蛋白和

mRNA表达明显下调(均 $P<0.01$),在RBE细胞过表达LOXL2后,VEGFA的蛋白和mRNA表达明显上调(均 $P<0.01$)(图5)。

2.5 干预LOXL2后胆管癌细胞VEGFA的分泌水平

进一步通过ELISA实验检测干预LOXL2后对VEGFA的分泌影响,发现在QBC939细胞干扰LOXL2后,与对照组比较,VEGFA的分泌水平明显减少($P<0.01$),而在RBE细胞过表达LOXL2后,与对照组比较,VEGFA的分泌水平明显增加($P<0.01$)(图6)。

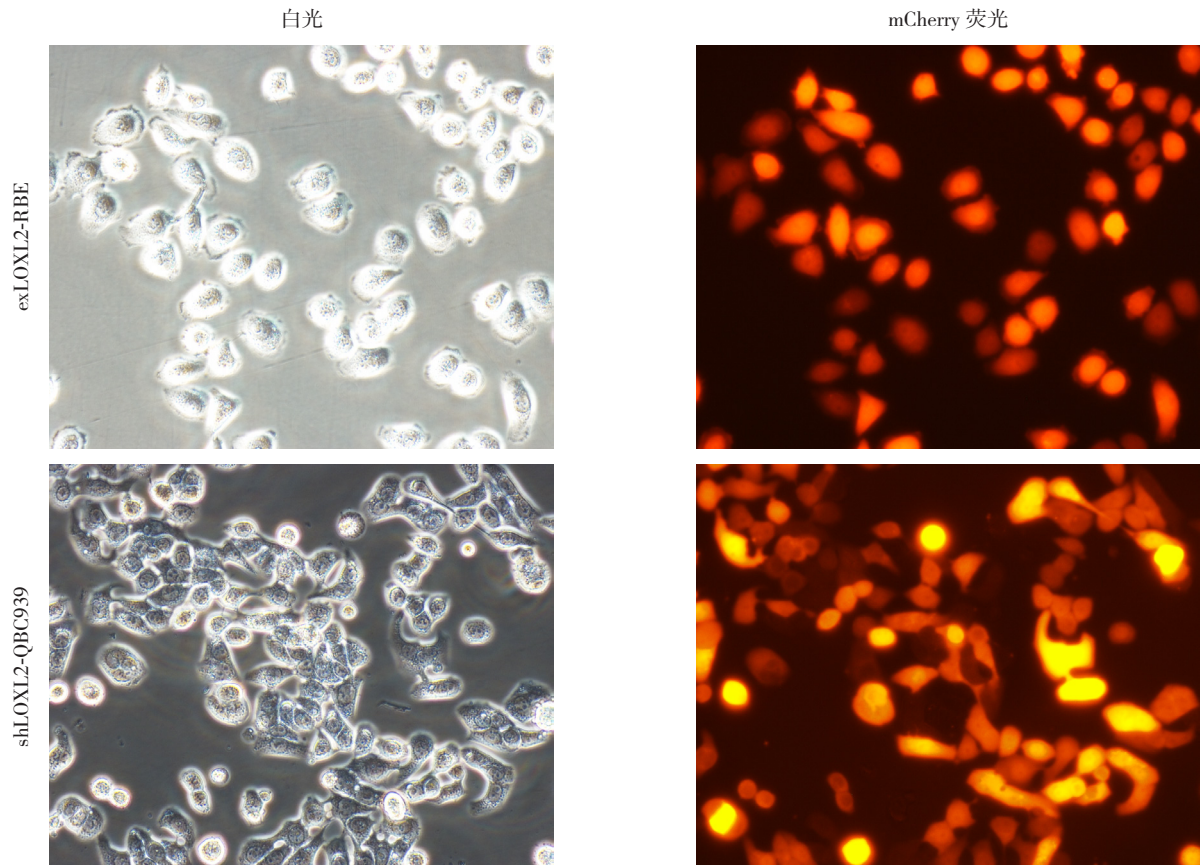


图 4 荧光显微镜观察病毒转染的 RBE 细胞和 QBC939 (× 400)

Figure 4 RBE and QBC939 cells transfected with the lentivirus observed under fluorescence microscopy (×400)

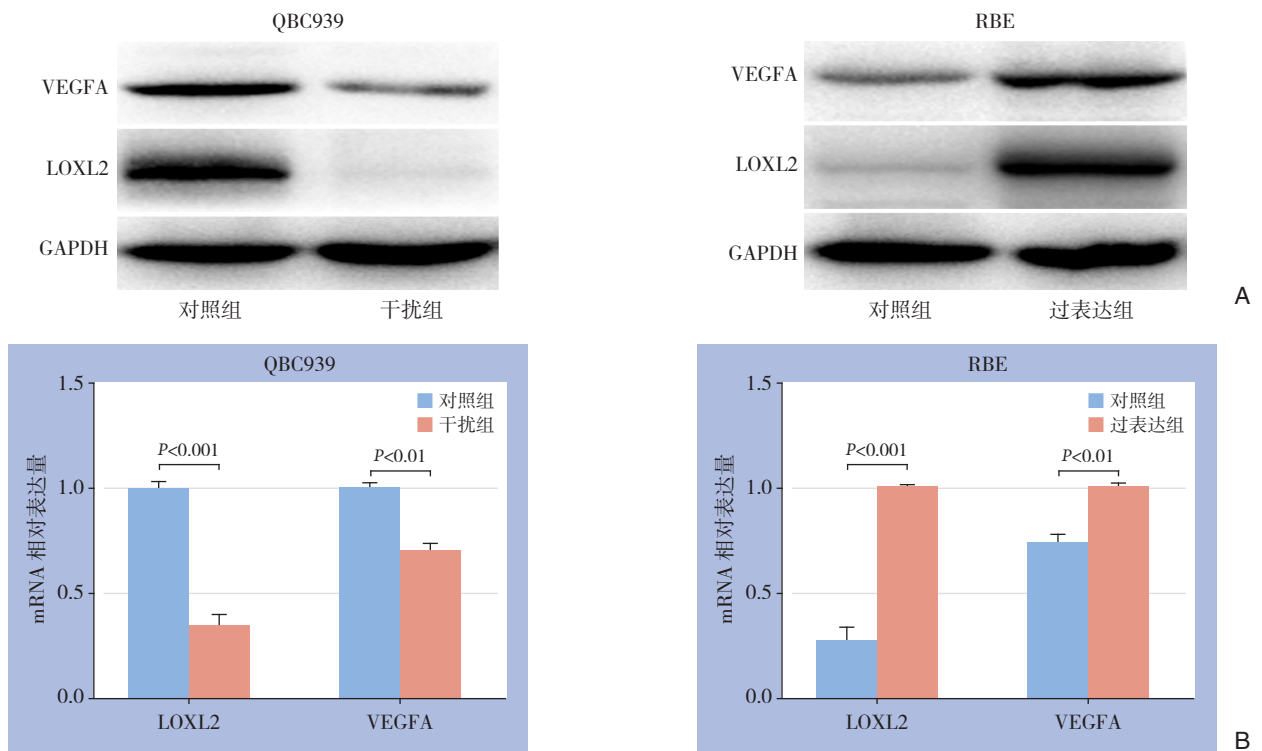


图 5 干预 LOXL2 后胆管癌细胞 VEGFA 的表达情况 mRNA 表达

A: Western blot 检测 VEGFA 蛋白表达; B: qRT-PCR 检测 VEGFA

Figure 5 VEGFA expressions in CCA cells after LOXL2 interventions B: VEGFA mRNA expressions determined by qRT-PCR

A: VEGFA protein expressions determined by Western blot;

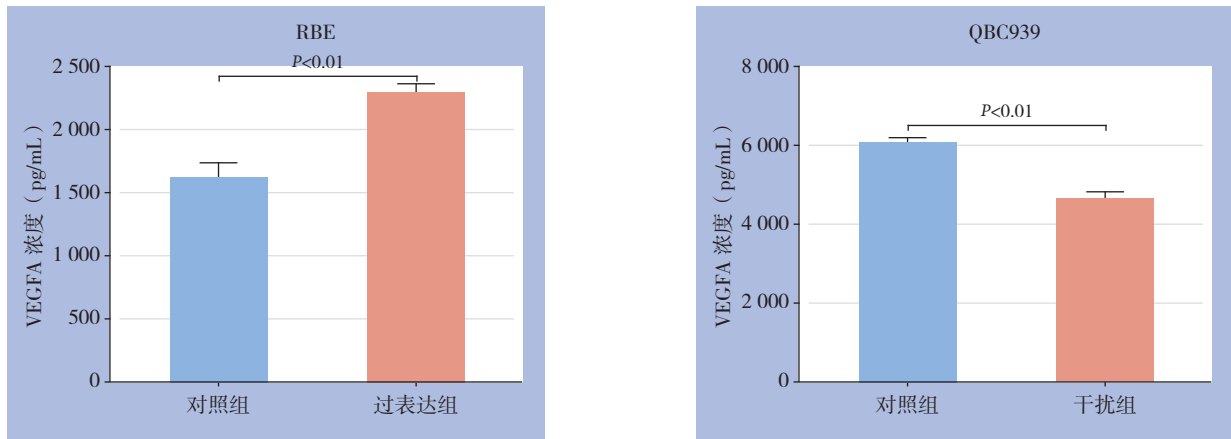


图 6 干预 LOXL2 后胆管癌细胞 VEGFA 的分泌水平
Figure 6 Secretion levels of VEGFA in CCA cells after LOXL2 interventions

2.6 干预 LOXL2 后对血管形成的影响

收集胆管癌细胞各处理的条件培养基组进行血管形成实验, 结果显示, 过表达 LOXL2 的 RBE

细胞的条件培养基培养的 HUVECs 与对照组比较, 管腔形成数明显增加 ($P < 0.01$), 而干扰 LOXL2 的 QBC939 细胞的条件培养基培养的 HUVECs 与对照组比较, 管腔形成数明显减少 ($P < 0.01$) (图 7)。

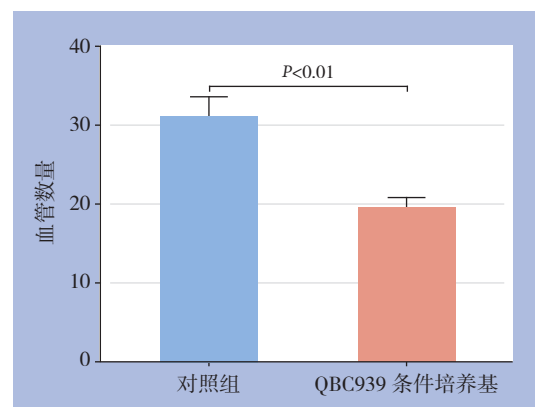
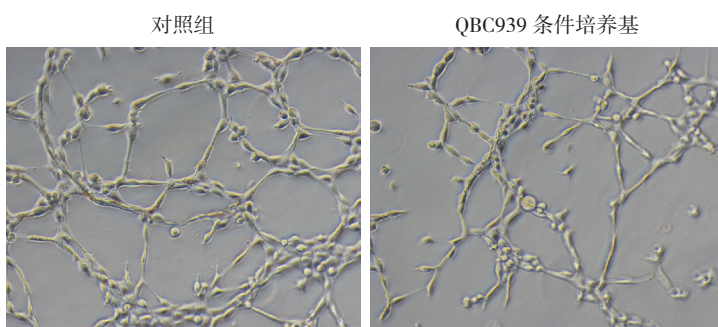
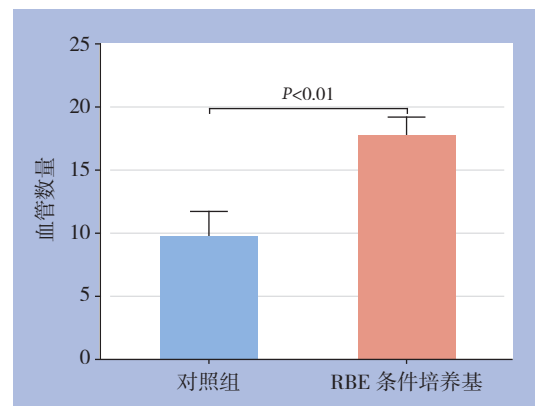
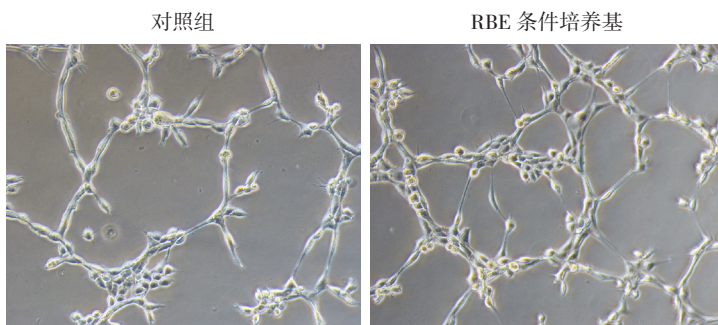


图 7 血管形成实验结果
Figure 7 Results of the angiogenesis assay

3 讨论

血管生成在人类生殖、器官形成、伤口愈合

以及组织修复过程中发挥着重要作用, 同样在各种疾病如肿瘤进展中也起着关键角色^[8]。目前血管生成已经成为恶性肿瘤公认的标志之一, 肿瘤的血管通过提供营养和氧来维持肿瘤的侵袭性生长

和转移^[9]。多种生长因子通过不同的机制激活血管生成,其中VEGFA是最主要的生长因子,激活信号通路诱导内皮细胞增殖和迁移,促进内皮细胞出芽以及管腔形成^[10-11]。尽管目前抗血管生成药物已用于临床,但是在治疗胆管癌方面作用有限以及临床副作用多^[12],因此有必要深入理解胆管癌血管生成的分子机制。本研究通过数据库分析及细胞水平验证,LOXL2通过上调VEGFA促进胆管癌血管生成,从而促进胆管癌的进展。

LOXL2是赖氨酰氧化酶家族5个成员(LOX、LOXL1、LOXL2、LOXL3、LOXL4)中的一员。赖氨酰氧化酶家族蛋白失调与纤维结缔组织疾病、心血管疾病以及肿瘤密切相关^[13]。LOXL2在各种肿瘤中高表达,参与了肿瘤的进展过程,包括乳腺癌、肺癌^[15, 14]。笔者先前的研究^[7]通过免疫组化发现LOXL2蛋白水平在胆管癌组织高表达,参与了胆管癌的进展,减少了患者的总体生存率以及无病进展期生存率。在GEO数据库分析,进一步证实了LOXL2的mRNA水平在胆管癌组织高表达。LOXL2通过不同的作用机制促进了肿瘤的进展。LOXL2可被肿瘤细胞分泌到细胞外,发挥的主要功能是催化细胞外基质胶原蛋白和弹性蛋白的交联及硬化^[15],细胞外基质的改变不仅为肿瘤细胞的生存和迁移提供了良好的微环境,还可以通过整合素等信号通路促进了肿瘤细胞的迁移和转移^[16]。细胞内的LOXL2发挥的作用表现在两方面,一方面在核内与一些转录因子结合促进上皮间质转化从而促进肿瘤的进展^[17-18],另一方面还参与了一些信号通路的激活^[19]。

Zaffryar-Eilott等^[20]使用LOXL2单克隆抗体(AB0023)抑制了卵巢癌、肺癌以及乳腺癌的血管形成。同时Wang等^[21]发现在肝细胞肝癌HIF-1 α 诱导血管形成是经过LOXL2介导形成。但是LOXL2诱导血管形成的机制还不是很清楚,本研究通过GSEA分析发现LOXL2也可能参与了胆管癌的血管形成。由于VEGFA在血管形成中起主要作用,本研究随后在GEO数据库分析LOXL2与VEGFA的表达关系,发现两者的表达在多个样本库中密切相关,在体外实验,通过干预LOXL2观察对VEGFA的表达影响,证实LOXL2能够调节VEGFA的表达和分泌,并且影响血管形成。最新研究表面,LOXL2在肝、肺、肾^[22]以及心脏纤维

化的过程中起主要作用,并且LOXL2单克隆抗体在动物实验能够抑制肝纤维化^[23-25]。因此LOXL2可能成为胆管癌治疗的一个新靶标。

综上所述,本研究发现,LOXL2在胆管癌中高表达,通过上调VEGFA促进了肿瘤的血管形成,为LOXL2成为胆管癌治疗的靶点提供理论依据。

参考文献

- [1] Rizvi S, Khan SA, Hallemeier CL, et al. Cholangiocarcinoma-evolving concepts and therapeutic strategies[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(2):95-111. doi: 10.1038/nrclinonc.2017.157.
- [2] 顾劲扬. 恶性胆道肿瘤早期诊断技术与应用的研究进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2011, 20(8):869-872.
Gu JY. Progress of research on the early-diagnosis technology of malignant biliary tumors and its application[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2011, 20(8):869-872.
- [3] 项灿宏, 童翮. 肝门部胆管癌外科治疗的进展与争议[J]. *中国普通外科杂志*, 2018, 27(2):137-142. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2018.02.001.
Xiang CH, Tong X. Surgical treatment of hilar cholangiocarcinoma: progress and controversy[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2018, 27(2):137-142. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2018.02.001.
- [4] Xu J, Li D, Li X, et al. 67 laminin receptor promotes the malignant potential of tumour cells up-regulating lysyl oxidase-like 2 expression in cholangiocarcinoma[J]. *Dig Liver Dis*, 2014, 46(8):750-757. doi: 10.1016/j.dld.2014.03.017.
- [5] Ahn SG, Dong SM, Oshima A, et al. LOXL2 expression is associated with invasiveness and negatively influences survival in breast cancer patients[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2013, 141(1):89-99. doi: 10.1007/s10549-013-2662-3.
- [6] Moreno-Bueno G, Salvador F, Martin A, et al. Lysyl oxidase-like 2 (LOXL2), a new regulator of cell polarity required for metastatic dissemination of basal-like breast carcinomas[J]. *EMBO Mol Med*, 2011, 3(9):528-544. doi: 10.1002/emmm.201100156.
- [7] Subramanian A, Tamayo P, Mootha VK, et al. Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(43):15545-15550. doi: 10.1073/pnas.0506580102.
- [8] Fallah A, Sadeghinia A, Kahroba H, et al. Therapeutic targeting of angiogenesis molecular pathways in angiogenesis-dependent diseases[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 110:775-785. doi: 10.1016/j.biopha.2018.12.022.
- [9] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. *Cell*, 2011, 144(5):646-674. doi: 10.1016/

- j.cell.2011.02.013.
- [10] Claesson-Welsh L, Welsh M. VEGFA and tumour angiogenesis[J]. *J Intern Med*, 2013, 273(2):114–127. doi: 10.1111/joim.12019.
- [11] 赵月鸣, 邹玉凤, 董莹, 等. 母系印迹表达基因3在结直肠癌组织中表达及其与血管生成的关系[J]. *中国普通外科杂志*, 2016, 25(10):1450–1454. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.10.014.
- Zhao YM, Zou YF, Dong Y, et al. Expression of maternally expressed gene 3 in colorectal cancer tissue and its relation with angiogenesis[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2016, 25(10):1450–1454. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.10.014.
- [12] Iyer RV, Pokuri VK, Groman A, et al. A Multicenter Phase II Study of Gemcitabine, Capecitabine, and Bevacizumab for Locally Advanced or Metastatic Biliary Tract Cancer[J]. *Am J Clin Oncol*, 2018, 41(7):649–655. doi: 10.1097/COC.0000000000000347.
- [13] Moon HJ, Finney J, Ronnebaum T, et al. Human lysyl oxidase-like 2[J]. *Bioorg Chem*, 2014, 57:231–241. doi: 10.1016/j.bioorg.2014.07.003.
- [14] Peinado H, Moreno-Bueno G, Hardisson D, et al. Lysyl oxidase-like 2 as a new poor prognosis marker of squamous cell carcinomas[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(12):4541–4550. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6345.
- [15] Lucero HA, Kagan HM. Lysyl oxidase: an oxidative enzyme and effector of cell function[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2006, 63(19/20):2304–2316. doi: 10.1007/s00018-006-6149-9.
- [16] Barker HE, Cox TR, Erler JT. The rationale for targeting the LOX family in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(8):540–552. doi: 10.1038/nrc3319.
- [17] Peinado H, Del Carmen Iglesias-de la Cruz M, Olmeda D, et al. A molecular role for lysyl oxidase-like 2 enzyme in snail regulation and tumor progression[J]. *EMBO J*, 2005, 24(19):3446–3458. doi: 10.1038/sj.emboj.7600781.
- [18] Canesin G, Cuevas EP, Santos V, et al. Lysyl oxidase-like 2 (LOXL2) and E47 EMT factor: novel partners in E-cadherin repression and early metastasis colonization[J]. *Oncogene*, 2015, 34(8):951–964. doi: 10.1038/ncr.2014.23.
- [19] Cuevas EP, Eraso P, Mazón MJ, et al. LOXL2 drives epithelial-mesenchymal transition via activation of IRE1-XBP1 signalling pathway[J]. *Sci Rep*, 2017, 7:44988. doi: 10.1038/srep44988.
- [20] Zaffryar-Eilot S, Marshall D, Voloshin T, et al. Lysyl oxidase-like-2 promotes tumour angiogenesis and is a potential therapeutic target in angiogenic tumours[J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(10):2370–2379. doi: 10.1093/carcin/bgt241.
- [21] Wang M, Zhao X, Zhu D, et al. HIF-1 α promoted vasculogenic mimicry formation in hepatocellular carcinoma through LOXL2 up-regulation in hypoxic tumor microenvironment[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017, 36(1):60. doi: 10.1186/s13046-017-0533-1.
- [22] Cosgrove D, Dufek B, Meehan DT, et al. Lysyl oxidase like-2 contributes to renal fibrosis in Col4 α 3/Alport mice[J]. *Kidney Int*, 2018, 94(2):303–314. doi: 10.1016/j.kint.2018.02.024.
- [23] Ikenaga N, Peng ZW, Vaid KA, et al. Selective targeting of lysyl oxidase-like 2 (LOXL2) suppresses hepatic fibrosis progression and accelerates its reversal[J]. *Gut*, 2017, 66(9):1697–1708. doi: 10.1136/gutjnl-2016-312473.
- [24] Barry-Hamilton V, Spangler R, Marshall D, et al. Allosteric inhibition of lysyl oxidase-like-2 impedes the development of a pathologic microenvironment[J]. *Nat Med*, 2010, 16(9):1009–1017. doi: 10.1038/nm.2208.
- [25] Yang J, Savvatis K, Kang JS, et al. Targeting LOXL2 for cardiac interstitial fibrosis and heart failure treatment[J]. *Nat Commun*, 2016, 7:13710. doi: 10.1038/ncomms13710.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 彭滔, 李大江, 王曙光. 赖氨酰氧化酶样蛋白2在胆管癌中的表达以及与血管内皮生长因子A及血管生成的关系[J]. *中国普通外科杂志*, 2019, 28(8):943–951. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.08.006

Cite this article as: Peng T, Li DJ, Wang SG. Expression of lysyl oxidase-like 2 in cholangiocarcinoma and its relations with vascular endothelial growth factor A and angiogenesis[J]. *Chin J Gen Surg*, 2019, 28(8):943–951. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.08.006