

赖氨酰氧化酶样蛋白 1 在日本血吸虫感染小鼠肝脏中的动态表达

戴冰心 龚 澧 杨旭晗 沈际佳 刘 森

摘要 目的 观察赖氨酰氧化酶(LOX)家族中的赖氨酰氧化酶样蛋白 1(LOXLI)及相关胶原蛋白在日本血吸虫感染小鼠肝脏中的动态表达,探讨其在本血吸虫肝纤维化形成中的作用。方法 采用日本血吸虫感染的小鼠肝纤维化模型,于感染后第 6、9、12 周剖杀小鼠,收集其血清和肝脏标本;以 HE 和天狼星红两种染色方法分别观察并评价小鼠肝脏纤维化的进展程度;同时检测小鼠血清转氨酶水平。以免疫印迹(Western blot)和荧光定量 PCR(qPCR)方法分别检测肝组织 LOXLI、I 型胶原蛋白(Coll)及 α -肌动蛋白(α -SMA)的表达并分析其含量的变化;并对血清中的可溶性和不可溶性胶原进行测定,以判断胶原交联情况。结果 HE 和天狼星红染色结果显示,随感染时间延长,小鼠肝纤维化也随之进展,在感染第 9 周肝纤维化程度最为严重,随后进入慢性肝纤维化期,纤维化程度减轻。Western blot 和 qPCR 结果显示,LOXLI 和其他纤维化指标表达情况类似,均在感染第 9 周时表达量明显上调;可溶性胶原含量在感染第 9 周时达峰值后下降,而不可溶性胶原含量则持续上升。结论 LOXLI 与血吸虫肝脏纤维化过程中纤维交联存在相关关系,可能在肝纤维化进程中起到促进作用。

关键词 日本血吸虫;赖氨酰氧化酶样蛋白 1;肝纤维化;胶原交联

中图分类号 R 383.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2023)03-0386-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.03.007

血吸虫病是一种人兽共患寄生虫病,全世界有 2.4 亿多人需要治疗^[1]。截止 2020 年中国尚存晚期日本血吸虫病患者 29 517 例^[2]。血吸虫病的主要危害是肝脏肉芽肿的形成及其导致的肝纤维化,

最终胶原交联是纤维化基质稳定的一个重要过程,抑制胶原交联被认为是逆转肝纤维化的重要策略之一^[3]。

赖氨酰氧化酶样蛋白 1(recombinant lysyl oxidase like protein 1, LOXLI)在肝纤维的胶原交联中起到重要作用,可促进溶性胶原向不可溶性胶原转变^[4]。如在非酒精性脂肪性肝炎小鼠中,LOXLI 在胆碱缺乏 L-氨基酸饮食诱导肝纤维化中高表达,敲低 LOXLI 可减轻肝纤维化^[5]。但其在血吸虫所致肝纤维化中的作用尚未见报道。本研究用 HE 和天狼星红染色、qPCR 和 Western blot 等技术检测 LOXLI 在血吸虫肝纤维化小鼠模型中的动态表达情况,随后对小鼠肝脏可溶性及不可溶性胶原含量进行测定,初步确定 LOXLI 与血吸虫肝脏纤维化过程中纤维交联存在相关关系,可能在血吸虫肝纤维化中起到促进作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物模型制备 选用 24 只 SPF 级雌性 C57BL/6 小鼠,6 周龄,购自北京斯贝福生物技术公司,随机分为正常对照组(Control 组)、感染第 6 周组、第 9 周组和第 12 周组,每组 6 只。在无菌的 SPF 环境中使用真空包装无菌饲料及高压无菌水饲养。阳性钉螺(含日本血吸虫尾蚴)购自江西省血吸虫防治研究所。Control 组 C57BL/6 鼠不进行任何处理直接取材,其他模型组 C57BL/6 鼠统一给予腹部拔毛处理,经腹部皮肤感染尾蚴(15 ± 1)条,分别于感染后的第 6、9、12 周眼球取血后取材。与未感染组小鼠比较,感染组小鼠肝脏颜色明显发黑;于肝门静脉和肠系膜静脉捡取到日本血吸虫成虫并分别对每组成虫数量进行计数,结果无明显差异,确认小鼠感染了日本血吸虫;再取其肝脏和脾脏进行称重。取右叶肝脏采用 4% 多聚甲醛固定、石蜡包埋切片,进行 HE 和天狼星红染色;其余肝脏组织存于 -80 °C 待提取 RNA 和蛋白。

1.2 主要试剂 TRIzol 购自美国 Invitrogen 公司;荧光定量 PCR 试剂盒(TB Green[®] Premix Ex Taq[™])

2022-11-10 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:0114011211);安徽高校自然科学基金项目(编号:KJ2019A0223)

作者单位:安徽医科大学基础医学院病原生物学教研室,病原生物学安徽省重点实验室,人畜共患病安徽高校省级重点实验室,合肥 230032

作者简介:戴冰心,女,硕士研究生;

沈际佳,男,教授,博士生导师,责任作者,E-mail: shenjijia@hotmail.com;

刘 森,男,副教授,硕士生导师,责任作者,E-mail: iammi-aoliu@126.com

II) 及逆转录试剂盒(PrimeScript™ RT Master Mix) 购自日本 TakaRa&Clontech 公司,定量引物由北京擎科生物公司合成;Western blot 用赖氨酰氧化酶样蛋白 1 (recombinant lysyl oxidase like protein 1, LOXL1) 蛋白单克隆抗体、内参甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 抗体购自博士德生物公司, α 平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA) 抗体及 I 型胶原蛋白 (Collagen Type I, Col1) 抗体购自 Affinity 亲科生物公司; Western blot 一抗稀释液、RIPA 裂解液、蛋白酶和磷酸酶抑制剂、BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自碧云天生物技术公司; 天狼星红染色剂及苏木精伊红 (HE) 染色剂均购自索莱宝公司; 可溶性胶原蛋白及不可溶性胶原蛋白检测试剂盒购自英国 Bio-color 公司; 其余试剂均产自国产分析纯。

1.3 HE 染色 二甲苯脱蜡 30 min, 100% (I、II)、90%、80%、70% 酒精各脱水 5 min, 自来水冲洗。苏木精染色 5 min, 再 5% 乙酸分化 1 min, 伊红染色 1 min 后流水冲洗。70%、80%、90%、100% 乙醇溶液各 10 s, 二甲苯 1 min 进行脱水, 中性树胶封片。采用正置显微镜拍摄并用 Image J 图像分析软件计算病变区域, 并进行统计学分析。

1.4 天狼星红染色 常规脱蜡至水, 苏木精染色液染色 10~20 min, 酸性分化液分化数秒, 自来水冲洗 5~10 min, 天狼星红染色液滴染 1 h。流水稍冲洗, 常规脱水, 中性树胶封片。采用正置显微镜拍摄并用 Image J 图像分析软件计算胶原面积, 再进行统计学分析。

1.5 血清转氨酶浓度的检测 采用摘除眼球方法取 C57BL/6 鼠全血, 室温 3 000 r/min 离心 5 min, 留取上层血清。全自动生化仪检测血清谷丙转氨酶 (glutamate pyruvate transaminase, ALT) 和谷草转氨酶 (aspartate transaminase, AST), 制作标准曲线。

1.6 q-PCR 测定相关基因表达 利用 TRIzol 试剂分别提取感染不同周龄的肝脏的总 RNA。用 Nano-Drop2000 测定 RNA 浓度并记录, 按照宝生物 (TaKaRa) 公司的逆转录试剂盒说明书步骤合成 cDNA。加样操作按照荧光定量 PCR 试剂盒 (SYBR Green) 说明书进行, 而后进行 PCR 过程, 按照两步法即 95 °C 预变性 30 s, 95 °C 5 s, 60 °C 60 s 进行 40 个循环。每孔设 3 个复孔, 以 GAPDH 为内参, 利用 Primer Premier6 软件自行设计目的引物序列, 详见表 1 根据实验结果获得 CT 值, 以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 公式计算基因的相对表达量。

表 1 荧光定量 PCR 引物序列

基因名	上游引物(5'-3')	下游引物(5'-3')
Col1 α 1	CGCCATCAAGGTCTACTGC	ACGGGAATCCATCGGTCA
Col3 α 1	CTGGACCCCAAGGTCTTC	GACCATCTGATCCAGGGTTTC
α -SMA	TGACGCTGAAGTATCCGATAGA	CGAAGCTCGTTATAGAAAGAGTG
LOXL1	CCGCAGCAGTTCCTATC	CGCGGGATCGTAGTTCTCA
GAPDH	TTCACCACCATGGAGAAGGC	GGCATGGACTGTGCTCATGA

1.7 Western blot 检测蛋白表达 提取不同感染时间 C57BL/6 鼠肝组织蛋白, 每 50 mg 肝组织加入含蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液, 冰上超声裂解。离心后取上清液用 BCA 法检测蛋白浓度, 调整上样量。蛋白用品与 5 × 上样缓冲液按 4 : 1 混匀, 沸水浴 10 min 变性。配制 10% 的 SDS-PAGE 胶, 加样后 80 V 电泳 2 h, 冰上转膜 1 h 后取出 PVDF 膜, 置于 5% 脱脂牛奶中室温封闭 2 h, 一抗 4 °C 振荡孵育过夜。洗膜后, 加辣根过氧化物酶标记的二抗室温孵育 2 h 后 TBST 洗涤, 使用化学发光仪进行底物显影曝光拍照, 检测 α -SMA、Col1 和 LOXL1 的蛋白表达变化。采用 ImageJ 图像分析软件分析灰度值。

1.8 可溶性及不可溶性胶原纤维含量测定 取肝组织 20 mg, PBS 洗 3 次, 剪碎肝组织, 加入裂解液 200 μ l, 4 °C 旋转过夜, 离心分离上清液与沉淀, 取上清液 100 μ l 即为可溶性胶原测试样品。沉淀放入不可溶性胶原蛋白消化液, 每 1 mg 沉淀添加 50 μ l 消化液, 37 °C 下消化 3 h, 每 30 min 混匀一次。取上清液即为不可溶性胶原测试样品, 每支样品取 100 μ l 进行测试。另准备好空白管 (100 μ l 去离子水)、可溶性和不可溶性胶原蛋白标准品, 与可溶性和不可溶性胶原蛋白测试样品共分为五组, 分别加入天狼星红染料试剂 1 ml, 颠倒几次, 充分混匀, 摇床上孵育 30 min, 再 12 000 r/min 离心 10 min, 弃上清液。每管中加入 750 μ l 冷盐酸去除沉淀上多余的染料。洗净后 12 000 r/min 离心 10 min, 留沉淀。加入碱溶剂充分溶解沉淀, 每个试管吸取部分溶液置于 96 孔板中, 在酶标仪中于波长 555 nm 处进行测量。

1.9 统计学处理 所有实验数据均使用 SPSS 23.0 分析, 组间均数比较采用单因素方差分析及两两比较的 Tukey 检验。结果均为 3 次独立重复实验数据, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 日本血吸虫感染的小鼠模型肝纤维化病理过程的发生与发展结果观察 HE 染色结果如图 1A

所示,C57BL/6 鼠在感染第 6 周时出现急性炎症细胞浸润,肝内门脉分支终端形成典型的急性虫卵肉芽肿。从图 1B 可以看出,随感染周龄增大,虫卵肉芽肿面积增多,差异有统计学意义 [$F(3, 8) = 89.83, P < 0.0001$] 纤维化程度加重。在感染第 9 周时发展为大面积的肝纤维化,出现大片肝细胞嗜酸性坏死,而感染第 12 周形成的肉芽肿面积 [23.66 ± 2.4] % 较感染第 9 周 [31.78 ± 3.4] % 相比减小。

天狼星红染色统计结果如图 1C 所示,胶原面积随感染时间发展而扩大,在感染第 9 周时达峰值,差异有统计学意义 [$F(3, 8) = 255.2, P < 0.0001$],感染第 12 周时纤维化面积大小 [25.8 ± 1.39] % 相较于感染第 9 周 [37.57 ± 2.13] % 时减小,差

异有统计学意义 ($P < 0.001$)。可见感染血吸虫后,小鼠肝纤维化程度会先大幅度加重;再转入肝纤维化慢性期,肝纤维化可出现一定程度的缓解。

2.2 日本血吸虫感染的小鼠血清转氨酶水平动态变化 与 Control 组比较,肝纤维化各组小鼠的血 ALT 和 AST 均明显升高。第 6 周 (173.33 ± 37.86) U/L 感染组血清 ALT 高于 Control 组 (23.67 ± 3.51) U/L,差异具有统计学意义 ($F = 31.88, P < 0.0001$),见图 2A。AST 与 ALT 同步升高,在第 6 周 AST 表达水平 (304.33 ± 29.87 U/L) 最高,差异具有统计学意义 ($F(3, 8) = 47.39, P < 0.0001$),见图 2B。结果表明 C57BL/6 鼠感染日本血吸虫后导致肝损伤。感染 6 周后,ALT 和 AST 开始下降,但仍高于对照组。

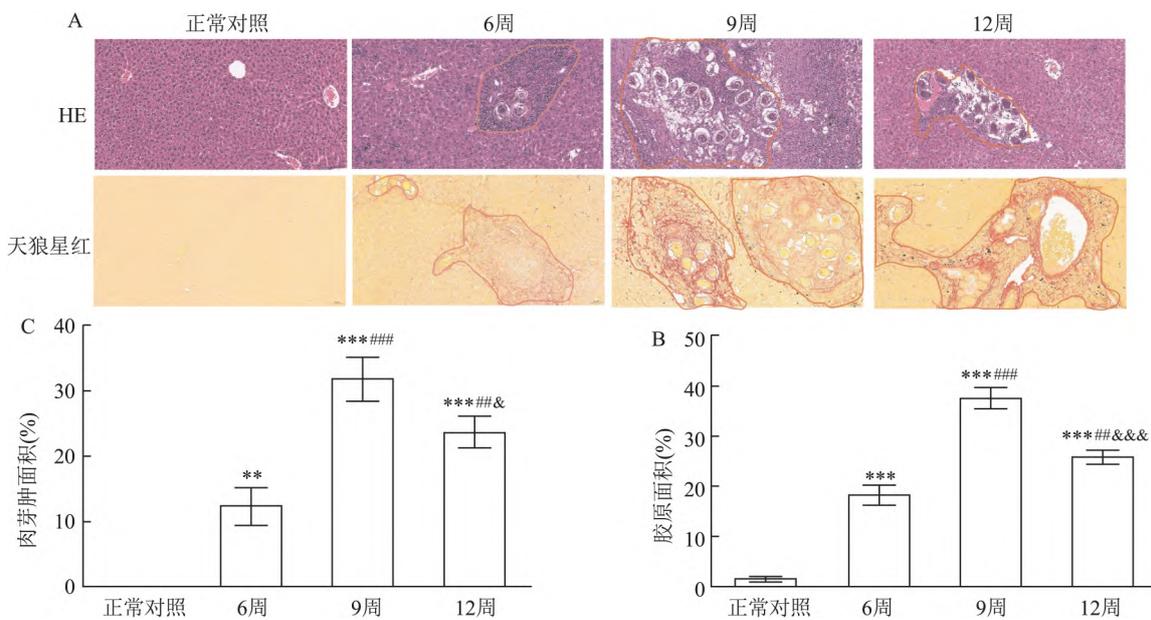


图 1 日本血吸虫感染后 C57BL/6 鼠肝纤维化的动态变化

A: HE 和天狼星红染色显示血吸虫感染 C57BL/6 鼠后肝肉芽肿和纤维化结果 $\times 200$; B: HE 染色显示肉芽肿面积占总面积的统计结果; C: 天狼星红染色显示胶原面积占总面积的统计结果; 与正常对照组比较: $** P < 0.01, *** P < 0.001$; 与 6 周组比较: $## P < 0.01, ### P < 0.001$; 与 9 周组比较: $& P < 0.05, \&\& P < 0.001$

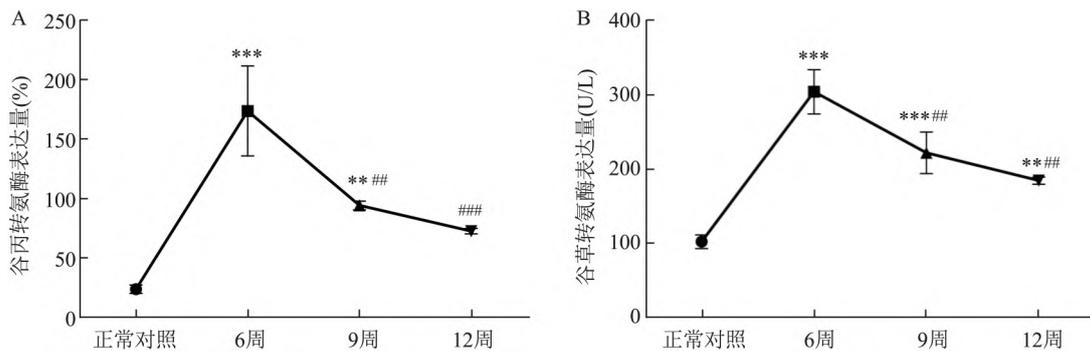


图 2 不同感染期血吸虫肝纤维化模型小鼠血清的转氨酶的动态变化

与正常对照组比较: $* P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001$; 与 6 周组比较: $## P < 0.01, ### P < 0.001$

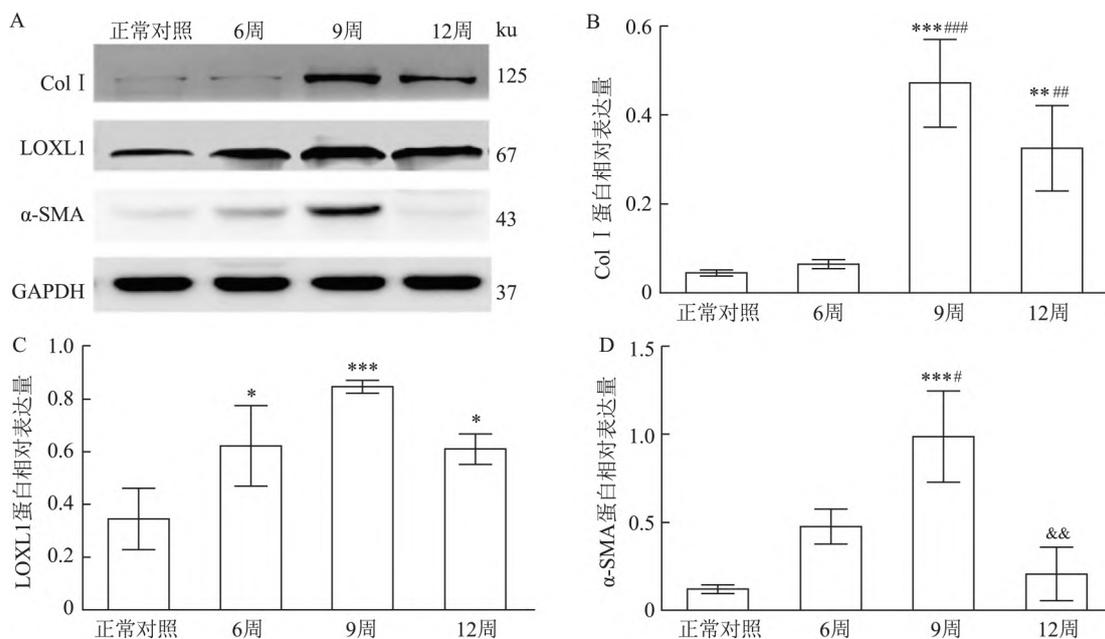


图3 不同感染期肝组织内 LOXL1、Col1 及 α -SMA 蛋白表达水平

与正常对照组比较: * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$; 与6周组比较: ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$; 与9周组比较: && $P < 0.01$

2.3 LOXL1、Col1 及 α -SMA 随肝纤维化发展的动态变化 取部分 C57BL/6 小鼠肝组织提取蛋白进行 Western blot 检测蛋白量表达。如图 3 所示, 可以观察到感染第 9 周组 [(0.47 ± 0.1), (0.85 ± 0.02), (0.99 ± 0.26)] 与 Control 组 [(0.05 ± 0.1), (0.35 ± 0.12), (0.12 ± 0.02)] 比较, Col1 [$F(3, 8) = 26.91, P < 0.001$], LOXL1 [$F(3, 8) = 12.38, P < 0.001$] 及 α -SMA [$F(3, 8) = 18.14, P < 0.001$] 蛋白表达量均上升, 差异具有统计学意义。而 Col1 和 LOXL1 在感染第 12 周与感染第 9 周时区别不明显, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); α -SMA 感染第 12 周与感染第 9 周比较, 差异有统计学意义 [$F(3, 8) = 18.14, P < 0.01$]。表明在肝纤维化进程中, 在蛋白水平上, LOXL1 与 Col1 和 α -SMA 的变化趋势相同。

2.3 肝组织内相关基因表达量随纤维化发展的动态变化 如图 4 显示 qPCR 结果显示, 与 Control 组比较, LOXL1 基因表达 [$F(3, 8) = 74.39, P < 0.001$] 与 Col1 α 1 [$F(3, 8) = 172.0, P < 0.001$], Col3 α 1 [$F(3, 8) = 205.4, P < 0.001$] 及 α -SMA [$F(3, 8) = 138.6, P < 0.001$] 的基因表达动态变化趋势相同, 均会随感染时间增加而上升, 在感染 9 周时达顶峰, 差异有统计学意义。LOXL1 在肝纤维化缓解期降低, 差异具有统计学意义 $P < 0.001$ 。即表明在 mRNA 表达水平上, LOXL1 与 Col1 α 1、Col3 α 1、 α -SMA 变化趋势相同。

2.4 胶原交联程度随纤维化进展的动态变化 为

研究 C57BL/6 小鼠肝脏的胶原含量随肝纤维化程度的改变而发生的变化, 使用可溶性和不可溶性胶原检测试剂盒来检测判断其胶原纤维交联情况, 结果如图 5 所示。发现可溶性胶原 [$F(3, 8) = 252.9, P < 0.001$] 及不可溶性胶原 [$F(3, 8) = 180.7, P < 0.001$] 含量随肝纤维化加重而上升, 差异有统计学意义。但可溶性胶原含量在感染 9 周时达峰值 ($P < 0.01$) 后下降, 而不可溶性胶原蛋白含量保持持续上升 ($P < 0.001$)。可溶性胶原含量与 LOXL1 动态变化趋势相同, 从而推测 LOXL1 可能与血吸虫肝脏纤维化过程中纤维交联之间存在相关关系。

3 讨论

血吸虫病是一种由血吸虫感染的急性和慢性寄生虫病, 中国主要流行日本血吸虫病^[2]。其最主要的危害来源于虫卵, 通过大量或多次感染血吸虫尾蚴, 引起血吸虫虫卵沉积于肝脏, 虫卵内毛蚴分泌的可溶性虫卵抗原可引起并引发宿主免疫反应及炎症反应, 形成虫卵肉芽肿。

据报道, 尾蚴从感染宿主到发育为成虫并开始产卵需要 24 d^[6], 感染第 1 周和第 3 周后没有发现虫卵的沉积, 第 6 周发现虫卵和胶原纤维的沉积, 开始出现明显的肝纤维化^[7]。另有报道, 肝纤维化程度在感染第 8 周^[8]时达顶峰, 感染第 12 周进入纤维化晚期^[7]。在本研究中, 使用 C57BL/6 小鼠作为该

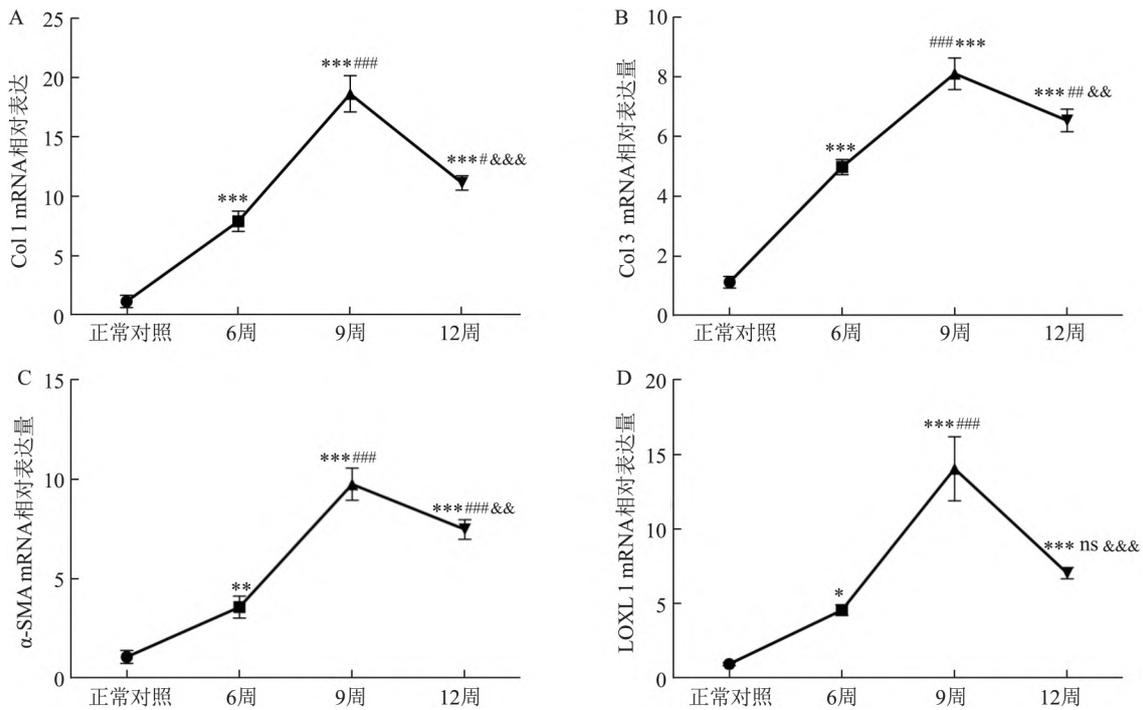


图4 不同感染期肝组织内 Col1 α 、Col3 α 、LOXL1 及 α -SMA 的 mRNA 表达水平

与正常对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 与6周组比较: ^{ns} $P > 0.05$, ^{##} $P < 0.01$, ^{###} $P < 0.001$; 与9周组比较: ^{&&} $P < 0.01$, ^{&&&} $P < 0.001$

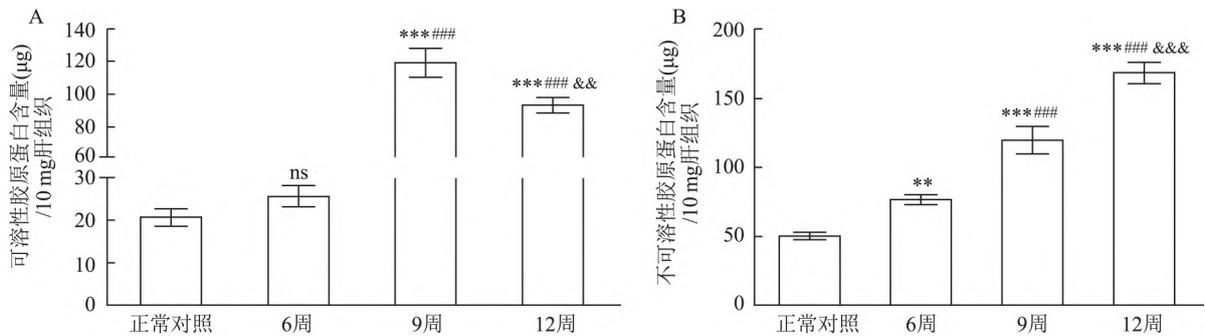


图5 不同感染时期每 10mg C57BL/6 鼠肝组织内可溶性胶原蛋白及不可溶性胶原蛋白含量

与正常对照组比较: ^{ns} $P > 0.05$, ** $P < 0.01$; 与6周组比较: ^{###} $P < 0.001$; 与9周组比较: ^{&&} $P < 0.01$, ^{&&&} $P < 0.0001$

疾病的模型动物,感染尾蚴 (15 ± 1) 条,分别于感染后第6、9、12周作为观察节点。而肝纤维化的过程中会表达大量的 α -SMA) 以及 I、III 型胶原等细胞外基质成分^[9],导致大量细胞外基质的合成。而 ALT 和 AST 是临床上检测肝功能最敏感的指标之一。通过检测这些指标判断纤维化程度,可观察到从感染后第4周至6周为肝脏虫卵肉芽肿形成期,而感染第6周以后肉芽肿则逐渐向纤维化发展,在感染9周达纤维化顶峰。

相关研究表明,胶原交联是纤维化基质稳定的重要过程,可抑制肝纤维化的可逆性^[3]。胶原交联程度越深,肝纤维化可逆性越差^[10]。因而抑制胶原交联被认为是抗肝纤维化疾病中有希望的治疗策略

之一^[11]。而赖氨酰氧化酶样蛋白(LOXL)家族与肝纤维化间关系密切^[12],能氧化 ECM 中胶原蛋白和弹性蛋白上的特殊的氨基酸残基,引起胶原纤维和弹性纤维的交联效应^[13]。因此被认为是纤维发生中的重要一环。然而,LOXL1 在日本血吸虫引起的肝纤维化中的功能尚未见报道。

本研究显示,在血吸虫致 C57BL/6 小鼠肝纤维化的模型中,LOXL1 在正常的肝脏中低表达,但在纤维化组小鼠的肝脏中高表达。随着肝纤维化程度的加重,LOXL1 的表达量与纤维化相关指标(如 I 型、III 型胶原、 α -SMA 等)同步变化,均在感染后第9周达峰值,随后降低。相关研究^[13],LOXL1 与胶原交联密不可分。本研究显示不同感染时间段的可溶

性及不可溶性胶原蛋白含量,发现在感染血吸虫9周之前可溶性胶原蛋白及不可溶性胶原蛋白随肝纤维化进展而增加,但在感染9周后,可溶性胶原蛋白含量开始下降,而不可溶性胶原蛋白含量依旧上升,且胶原蛋白总量持续上升,据此推测有部分可溶性胶原蛋白向不可溶性胶原蛋白转变,这可能也是导致晚期肝纤维化几乎不可逆的原因之一。

综上所述,课题组认为 LOXL1 可能与血吸虫肝脏纤维化过程中纤维交联之间存在相关关系,可促进可溶性胶原纤维向不可溶性胶原纤维转化,从而导致血吸虫晚期肝纤维化的不可逆性。

参考文献

- [1] Wang L, Zhu Z, Liao Y, et al. Host liver-derived extracellular vesicles deliver miR-142a-3p induces neutrophil extracellular traps via targeting WASL to block the development of *Schistosoma japonicum* [J]. Mol Ther, 2022, 30(5): 2092-107.
- [2] 张利娟,徐志敏,杨帆,等. 2020年全国血吸虫病疫情通报[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2021, 33(3): 225-33.
- [3] David C J, Massague J. Contextual determinants of TGF beta action in development, immunity and cancer [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2018, 19(7): 419-35.
- [4] Vallet S D, Ricard-Blum S. Lysyl oxidases: from enzyme activity to extracellular matrix cross-links [J]. Essays Biochem, 2019, 63(3): 349-64.
- [5] Yang A, Yan X, Fan X, et al. Hepatic stellate cells-specific LOXL1 deficiency abrogates hepatic inflammation, fibrosis, and corrects lipid metabolic abnormalities in non-obese NASH mice [J]. Hepatol Int, 2021, 15(5): 1122-35.
- [6] 华梦晴,邵延靖,刘淼,等. nanos1 基因在日本血吸虫不同发育时期的定位 [J]. 安徽医科大学学报, 2020, 55(2): 215-21.
- [7] 冯天航,姚豫桐,黄孝伦. 肝纤维化动物模型的研究进展 [J]. 实用医院临床杂志, 2017, 14(5): 256-9.
- [8] 周永华,徐辰,杨莹莹,等. 日本血吸虫诱导小鼠肝纤维化进程中 TGF- β 1 和 HSP47 的作用机制研究 [J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2019, 31(4): 382-7, 433.
- [9] 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]. J Hepatol, 2005, 43(3): 499-507.
- [10] Chen W, Yang A, Jia J, et al. Lysyl Oxidase (LOX) Family Members: Rationale and Their Potential as Therapeutic Targets for Liver Fibrosis [J]. Hepatology, 2020, 72(2): 729-41.
- [11] Chen L, Li S, Li W. LOX/LOXL in pulmonary fibrosis: potential therapeutic targets [J]. J Drug Target, 2019, 27(7): 790-6.
- [12] Issa R, Zhou X Y, Constandinou C M, et al. Spontaneous recovery from micronodular cirrhosis: Evidence for incomplete resolution associated with matrix cross-linking [J]. Gastroenterology, 2004, 126(7): 1795-808.
- [13] 王玉洁,谢雯. 赖氨酰氧化酶与肝纤维化研究进展 [J]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2012, 4(1): 47-51.

LOXL1 dynamic expression of the liver in mice infected with *Schistosoma japonicum*

Dai Bingxin, Gong Li, Yang Xuhan, Shen Jijia, Liu Miao

(Dept of Microbiology and Parasitology, Anhui Provincial Laboratory of Pathogen Biology and Anhui Key Laboratory of Zoonoses, School of Basic Medicine, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To observe the dynamic expression of recombinant lysyl oxidase like protein 1 (LOXL1) in the lysine oxidase family in the liver of C57BL/6 mice infected with *Schistosoma japonicum* and explore its role in hepatic fibrosis. **Methods** Mice were infected subcutaneously with cercariae of *S. japonicum* and sacrificed with euthanasia in 6, 9 and 12 weeks after infection. The sera and liver tissues were collected. The levels of liver fibrosis in mice was dynamically evaluated by HE and Sirius red staining, and the serum transaminases were detected. The dynamic expression levels of collagen type I (Col1), LOXL1 and α -smooth muscle actin (α -SMA) in liver tissues were determined respectively by Western blot and qPCR. Finally, the dynamic levels of soluble and insoluble collagens were detected. **Results** The result of HE and Sirius red staining showed that hepatic fibrosis levels increased at 6 weeks, peaked at 9 week, and decreased at 12 week in response to *S. japonicum* infection. Western blot and q-PCR showed that the expression levels of LOXL1, Col1 α 1, Col3 α 1 and α -SMA was significantly up regulated and reached maximum at the 9th week in response to *S. japonicum* infection. Soluble collagen protein levels reached maximum at the 9th week, and decreased at 12 week, however insoluble collagen protein levels continued to increase. **Conclusion** There may be a correlation between LOXL1 and fiber cross-linking in the process of hepatic fibrosis in *S. japonicum*, and it plays a role in promoting hepatic fibrosis.

Key words *Schistosoma japonicum*; LOXL1; liver fibrosis; collagen crosslinking