网络出版时间:2025 - 06 - 30 14:31:01 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20250630.0925.024

犬尿氨酸 - 3 - 单加氧酶在类风湿关节炎患者外周血单个核细胞和滑膜组织中的表达及意义

宗雪梅[1],林茜茜[1],陈悦兰[1],王鑫铭[2],魏 伟[1],严尚学[1,3],常 艳[1,3]

([1] 安徽医科大学药学科学学院临床药理研究所,抗炎免疫药物教育部重点实验室,安徽省抗炎免疫药物协同创新中心,合肥 230032;[2] 安徽医科大学第一附属医院药剂科,合肥 230022;[3] 安徽医科大学实验动物中心,合肥 230032)

摘要 **目的** 探讨犬尿氨酸-3-单加氧酶(KMO)在类风湿关节炎(RA)患者外周血单个核细胞(PBMC)、滑膜组织和成纤维样滑膜细胞(FLS)中的表达及临床意义。**方法** 收集25例健康对照(HC)个体和25例确诊为RA患者的外周血样本,采用实时荧光定量PCR和Western blot法对RA组和HC组PBMC中KMO基因和蛋白表达进行检测,并分析RA患者PBMC中KMO基因表达水平与实验室检测指标之间的相关性。同时,利用免疫组化和免疫荧光技术检测RA组和HC组滑膜组织及FLS中KMO的表达情况。**结果** ① RA组PBMC中KMO基因和蛋白表达高于HC组,差异有统计学意义($P<0.001$)。② RA组PBMC中KMO基因表达水平与疾病活动指数28评分、血沉、类风湿因子呈正相关($r_s=0.417$,$P=0.038$;$r=0.545$,$P=0.005$;$r_s=0.433$,$P=0.031$),与C反应蛋白、抗环瓜氨酸多肽抗体无相关性。③ RA组滑膜组织中KMO表达高于HC组,差异有统计学意义($P<0.01$);RA组滑膜组织FLS中KMO表达高于HC组,差异有统计学意义($P<0.001$)。**结论** RA患者PBMC、滑膜组织及FLS中KMO表达增加,且KMO基因表达水平与RA患者疾病活动性相关,提示KMO可能促进RA病程。

关键词 类风湿关节炎;犬尿氨酸-3-单加氧酶;犬尿氨酸;3-羟基犬尿氨酸;外周血单个核细胞;滑膜组织;成纤维样滑膜细胞

中图分类号 R 593.22;R 329.24

文献标志码 A **文章编号** 1000 - 1492(2025)07 - 1218 - 07

doi:10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2025.07.008

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis,RA)是一种慢性系统性自身免疫病,主要累及关节滑膜,产生慢性滑膜炎症,最终导致关节进行性损害,甚至功能丧失[1]。犬尿氨酸通路(kynurenine pathway,KP)为机体色氨酸(tryptophan,Trp)的主要代谢途径,其代谢失衡与RA的发生发展密切相关[2-3]。

犬尿氨酸-3-单加氧酶(kynurenine-3-monooxygenase,KMO)是KP下游的关键分支酶,位于线粒体外膜,主要表达于肝脏、肾脏和免疫细胞中[4],通过调节底物犬尿氨酸(kynurenine,Kyn)水平与下游代谢物3-羟基犬尿氨酸(3-hydroxykynurenine,3-HK)等的产生参与各种疾病的发生,包括自身免疫病、神经退行性疾病、癌症等[5]。但目前尚无研究探讨KMO在RA中的表达及作用。该研究采用实时荧光定量PCR(quantitative real-time PCR,RT-PCR)、Western blot法、免疫组化及免疫荧光法检测KMO在RA组和健康对照组(healthy control,HC)组外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells,PBMC)、滑膜组织及成纤维样滑膜细胞(fibroblast-like synoviocytes,FLS)中的表达,并分析RA患者PBMC中KMO基因表达水平与疾病活动度、炎症指标之间的关系,初步探讨KMO在RA患者中的表达及临床意义。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 病例资料 选取2023年12月—2024年6月于安徽医科大学第一附属医院及安徽医科大学第二附属医院风湿免疫科就诊并确诊为RA的25例患者,其中男性5例,女性20例,年龄36~79(61.56±12.95)岁,所有患者均符合2010年美国风湿病学制定的RA诊断标准[6],并排除其他疾病。HC组为25例健康志愿者,其中男性6例,女性19例,年龄29~74(59±11.51)岁,排除其他疾病。

2025 - 02 - 21 接收

基金项目:安徽省自然科学基金(编号:2108085MH320);安徽省转化医学研究院科研基金项目(编号:2023zhyx-C11)

作者简介:宗雪梅,女,硕士研究生;

王鑫铭,男,副教授,硕士生导师,通信作者,E-mail:wangxinming@ahmu.edu.cn;

常 艳,女,教授,硕士生导师,通信作者,E-mail:yychang@ahmu.edu.cn

中国知网 https://www.cnki.net

RA 组和 HC 组在性别、年龄上的差异均无统计学意义。收集 RA 患者临床资料和相关实验室检查数据，包括红细胞沉降率（erythrocyte sedimentation rate，ESR）、类风湿因子（rheumatoid factor，RF），C-反应蛋白（c-reactive protein，CRP）、抗环瓜氨酸多肽抗体（anti-cyclic citrulline peptide，anti-CCP），并根据 RA 患者的压痛关节数、肿胀关节数、ESR 和患者主观评分计算 RA 疾病活动性评分（disease activity score 28，DAS28）。本研究经过安徽医科大学伦理委员会批准，患者知情同意（批准号：83230269）。

1.1.2 主要试剂与仪器 人源 KMO 引物、人源 GAPDH 引物购自中国通用生物（安徽）股份有限公司；KMO 多克隆抗体（货号：10698-1-AP）、GAPDH 单克隆抗体（货号：60004-1-Ig）、Vimentin 单克隆抗体（货号：CL488-60330）、鼠二抗（货号：SA00001-1）购自武汉三鹰有限公司；荧光二抗 goat anti-rabbit 488（货号：M21012）、goat anti-mouse 647（货号：M21011）、兔二抗（货号：M21002）购自艾比玛特生物医药（上海）有限公司。PCR 扩增仪（型号：7500 Real Time）购自美国 Bio-Rad 公司；显影仪（型号：Tanon 4600）购自上海天能科技公司；激光共聚焦显微镜（型号：Leica sp8）购自德国徕卡仪器有限公司；组织原位细胞扫描分析系统（型号：Pannoramic MIDI II）购自山东斯瑞缔医疗科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 人 PBMC 的标本采集与处理 用 EDTA 抗凝管收集健康人和 RA 患者外周血样本，置于 4 ℃冰箱中保存，将 Ficoll 人淋巴细胞分离液复温 30 min。将外周血样本转移至对应 15 mL 离心管中，沿倾斜的管壁缓慢加入等体积的 Ficoll 人淋巴细胞分离液，置于 23 ℃离心机中，升降速为升 3 降 3，1 500 r/min 离心 30 min，吸取中间白膜层，即为 PBMC。

1.2.2 RT-PCR 检测 PBMC 中 KMO 基因表达 将提取的 HC 组和 RA 组 PBMC 转移到对应的无酶 EP 管中，加入 500 μL RNA 提取液，冰上静置 30 min 后加入 1/5 体积氯仿，混匀后冰上静置 15 min，离心吸取上层无色水相后加入等体积异丙醇，冰上静置 10 min，离心弃上清液后用 1 mL 75% 乙醇（DEPC 水配制）洗涤 RNA 沉淀，超净台风干沉淀 5～10 min，加入 10 μL DEPC 水溶解 RNA，测定其浓度后进行逆转录，再按照 RT-PCR 扩增试剂盒说明书进行 KMO 基因表达的实时荧光定量检测。以 GAPDH 为内参，采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法测定不同样本中目的基因 mRNA 表达水平的相对变化倍数。人源 KMO 和 GAPDH 引物序列见表 1。

表 1 引物序列信息

Tab. 1 Primer sequence information

Primer name	Primer sequence (5′-3′)
KMO	F: TGCTGAGAAATACCCCAATGTG
	R: CTGACAGTTGAATAGGCTCCATC
GAPDH	F: GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT
	R: GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG

1.2.3 Western blot 法检测 PBMC 中 KMO 蛋白表达 将提取的 HC 组和 RA 组 PBMC 转移到对应 EP 管中，加入适量 RIPA 裂解液，4 ℃冰箱摇床摇晃 30 min，提取 PBMC 总蛋白，再加入 1/4 体积的十二烷基硫酸钠上样缓冲液，加热变性。蛋白上样后以 80 V 电压进行电泳 2 h，再以 220 mA 电流冰浴转膜 2 h，5% 脱脂牛奶 37 ℃封闭 2 h，然后 4 ℃过夜孵育对应的一抗 KMO（1∶5 000）、GAPDH（1∶10 000）抗体；17 h 后，37 ℃孵育二抗 2 h［鼠二抗（1∶10 000），兔二抗（1∶5 000）］，最后使用增强化学发光系统可视化蛋白质条带，ImageJ 软件进行定量分析。

1.2.4 免疫组化法检测滑膜组织中 KMO 表达 将收集的 HC 组和 RA 组的滑膜组织白片置于 60 ℃烘箱过夜烘烤，进行脱蜡水化。使用 0.5% 曲拉通在室温下通透 30 min，50×EDTA 室温修复 10 min，用 3% H_2O_2 室温避光 15 min，以抑制内源性过氧化物酶活性。4 ℃过夜孵育一抗 KMO（1∶200）。17 h 后，室温避光孵育二抗反应增强液 30 min，用 DAB 染细胞质 25 s，迅速放入水中冲洗，苏木精染细胞核 10 s，自来水冲洗，脱水结束后，待白片晾干，用环保型中性树脂封片，3～5 d 后用组织原位细胞扫描分析系统扫片，使用 Slide Viewer 软件进行后续图像分析。

1.2.5 免疫荧光法检测滑膜组织 FLS 中 KMO 表达 将收集的 HC 组和 RA 组的滑膜组织白片置于 60 ℃烘箱过夜烘烤，进行脱蜡水化。使用 0.5% 曲拉通在室温下通透 10 min，50×EDTA 室温修复 10 min，用 5% 牛血清白蛋白封闭 30 min，4 ℃过夜混合孵育一抗 KMO（1∶200）和 Vimentin（1∶200）。17 h 后，室温避光孵育荧光二抗（goat anti-rabbit 488、goat anti-mouse 647，1∶200）90 min，再避光孵育 DAPI 染料 10 min，用抗荧光淬灭剂封片，在激光共聚焦显微镜下捕获图像，最后使用 ImageJ 软件进行后续平均荧光强度分析。

中国知网 https://www.cnki.net

1.3 统计学处理 采用 SPASS 27.0 软件进行统计分析，数据用 *Mean* ± *SEM* 表示，Shapiro-Wilk 检验评估数据分布的正态性。若符合正态分布，采用 *t* 检验；若不符合正态分布，则使用非参数检验。对于正态分布的两变量，使用 Pearson 相关分析；若不符合正态分布，使用 Spearman 相关分析。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 KMO 在 RA 患者 PBMC 中的基因表达 收集 HC 组和 RA 组的 PBMC，RT-PCR 检测两组 PBMC 中 KMO 的基因表达，结果显示，与 HC 组比较，RA 组 PBMC 中 KMO 基因表达水平上调（$t=-7.241$，$P<0.001$），见图 1。

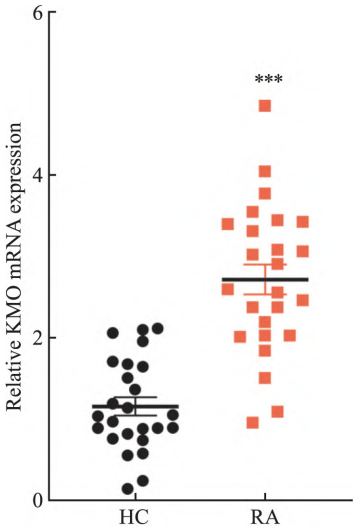

图 1 HC 组和 RA 组 PBMC 中 KMO 基因表达（$n=25$）

Fig. 1 KMO gene expression in PBMC of HC and RA groups ($n=25$)

*** $P<0.001$ *vs* HC group.

2.2 KMO 在 RA 患者 PBMC 中的蛋白表达 收集 HC 组和 RA 组的 PBMC，进一步用 Western blot 法检测两组 PBMC 中 KMO 的蛋白表达，结果显示，RA 组 PBMC 中 KMO 蛋白表达水平高于 HC 组（$t=-6.412$，$P<0.001$），见图 2。

2.3 RA 患者 PBMC 中 KMO mRNA 表达与 DAS28 评分相关性分析 对 KMO mRNA 和 DAS28 进行正态分布检验，其中 KMO mRNA 符合正态分布（$P=0.200$），DAS28 不符合（$P=0.033$），采用 Spearman 相关性分析，结果显示，RA 患者 PBMC 中 KMO mRNA 表达与 DAS28 评分呈正相关（$r_s=0.417$，$P=0.038$），见图 3。

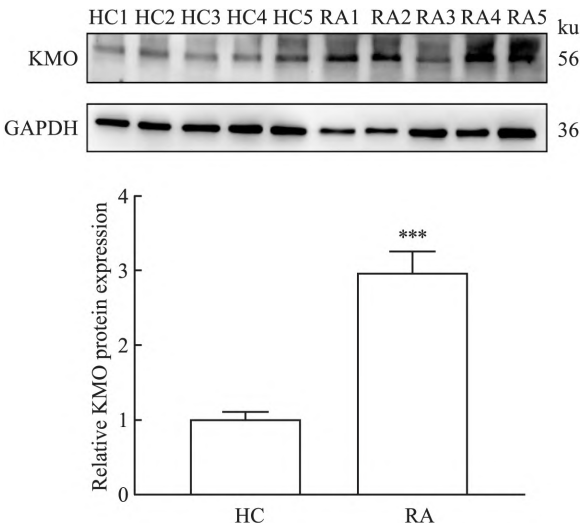

图 2 HC 组和 RA 组 PBMC 中 KMO 蛋白表达（$n=10$）

Fig. 2 KMO protein expression in PBMC of HC and RA groups ($n=10$)

*** $P<0.001$ *vs* HC group.

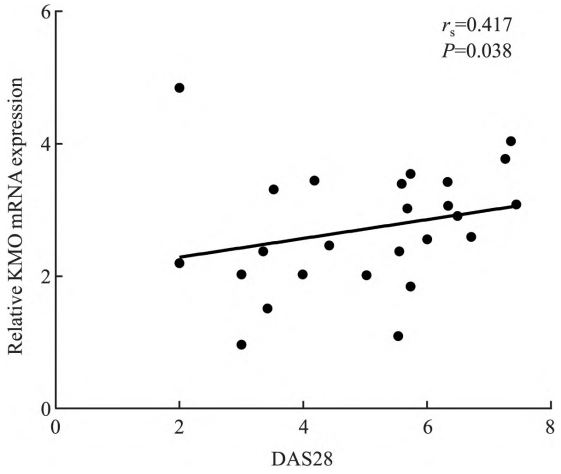

图 3 RA 患者 PBMC 中 KMO mRNA 表达与 DAS28 相关性分析（$n=25$）

Fig. 3 Correlation analysis between KMO mRNA expression and DAS28 in PBMC of RA patients ($n=25$)

2.4 RA 患者 PBMC 中 KMO mRNA 表达与炎症指标的相关性分析 对 KMO mRNA 和炎症指标进行正态分布检验，其中 KMO mRNA（$P=0.200$）和 ESR（$P=0.200$）符合正态分布，采用 Pearson 相关性分析，结果显示，RA 患者 PBMC 中 KMO mRNA 表达与 ESR 呈正相关（$r=0.545$，$P=0.005$），见图 4A；RF（$P<0.001$）、CRP（$P<0.001$）和 anti-CCP（$P=0.014$）不符合正态分布，采用 Spearman 相关性分析，结果显示，RA 患者 PBMC 中 KMO mRNA 表达与 RF 呈正相关（$r_s=0.433$，$P=0.031$），见图 4B，与 CRP 和 anti-CCP 无显著相关性（$r_s=0.394$，$P=0.051$；$r_s=0.216$，$P=0.300$），见图 4C、4D。

中国知网 https://www.cnki.net

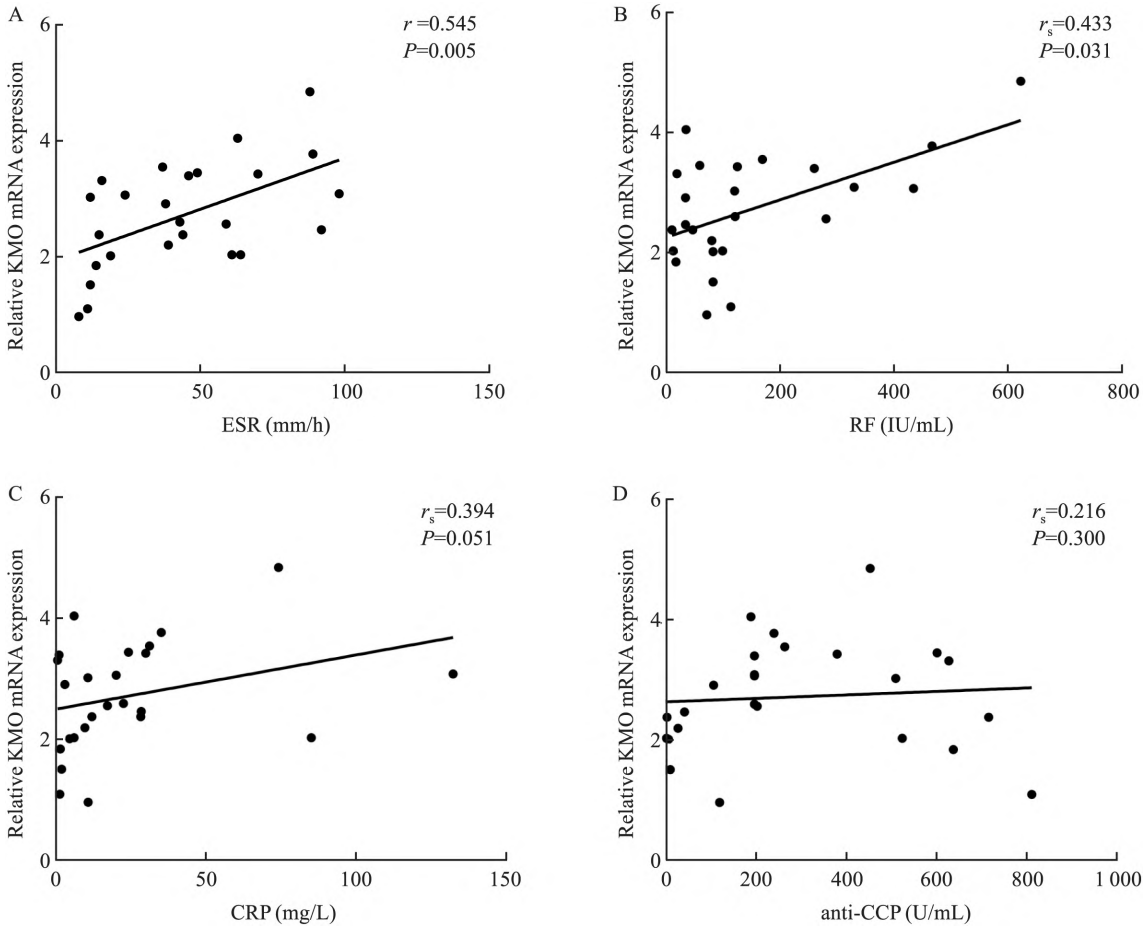

图4 RA患者PBMC中KMO mRNA表达与炎症指标相关性分析($n=25$)

Fig. 4 Correlation analysis between KMO mRNA expression and inflammatory markers in PBMC of RA patients ($n=25$)

A: Correlation analysis of KMO mRNA expression with ESR in PBMC of RA patients; B: Correlation analysis of KMO mRNA expression with RF in PBMC of RA patients; C: Correlation analysis of KMO mRNA expression with CRP in PBMC of RA patients; D: Correlation analysis of KMO mRNA expression with anti-CCP in PBMC of RA patients.

2.5 KMO在RA患者滑膜组织及FLS中的表达

在RA患者滑膜组织中,FLS异常增殖和大量免疫细胞浸润,以及持续的慢性滑膜炎导致软骨和骨骼的不可逆损伤。免疫组化结果表明,与HC组相比,KMO在RA组滑膜组织中表达增加($t=-4.025$,$P<0.01$),见图5A; FLS是构成滑膜组织的主要细胞,为了进一步探究RA患者FLS中KMO的表达情况,用KMO和人的FLS标志物Vimentin对滑膜组织进行免疫荧光共染色,结果显示,与HC组相比,RA组FLS数量增多,且KMO在RA组FLS中的表达增加($t=-5.914$,$P<0.001$),见图5B。

3 讨论

RA是一种慢性系统性自身免疫病,病理特征主要是关节滑膜组织增生、血管翳形成及多种免疫细胞的浸润,继而引起软骨和骨组织破坏,最终导致关节畸形和功能丧失。临床试验显示[2],RA患者血清中Trp水平降低,Kyn、3-HK水平增加,提示KP在RA患者体内代谢异常。Trp经吲哚胺2,3-双加氧酶1(indoleamine 2,3-dioxygenase 1,IDO1)、IDO2和色氨酸2,3-双加氧酶(tryptophan 2,3-dioxygenase,TDO2)三种酶催化转变为重要中间代谢物Kyn,Kyn在KMO催化下产生3-HK等下游代谢物。

尽管IDO1、IDO2和TDO2均能催化Trp转化为Kyn,但它们在底物、表达和功能上存在特异性。目前IDO1在RA中研究较多。据报道[7-8],IDO1在RA中具有促炎和抗炎双重作用,可能与不同关节炎模型发病特点和病理机制不同有关。IDO2的生物学功能尚未完全明确。有研究[9-10]显示,IDO2通过影响自身免疫性关节炎小鼠的抗体产生在炎症免疫反应中发挥关键作用。TDO2在RA中研究较少。本课题组前期首次发现[11] TDO2在RA患者及

中国知网 https://www.cnki.net

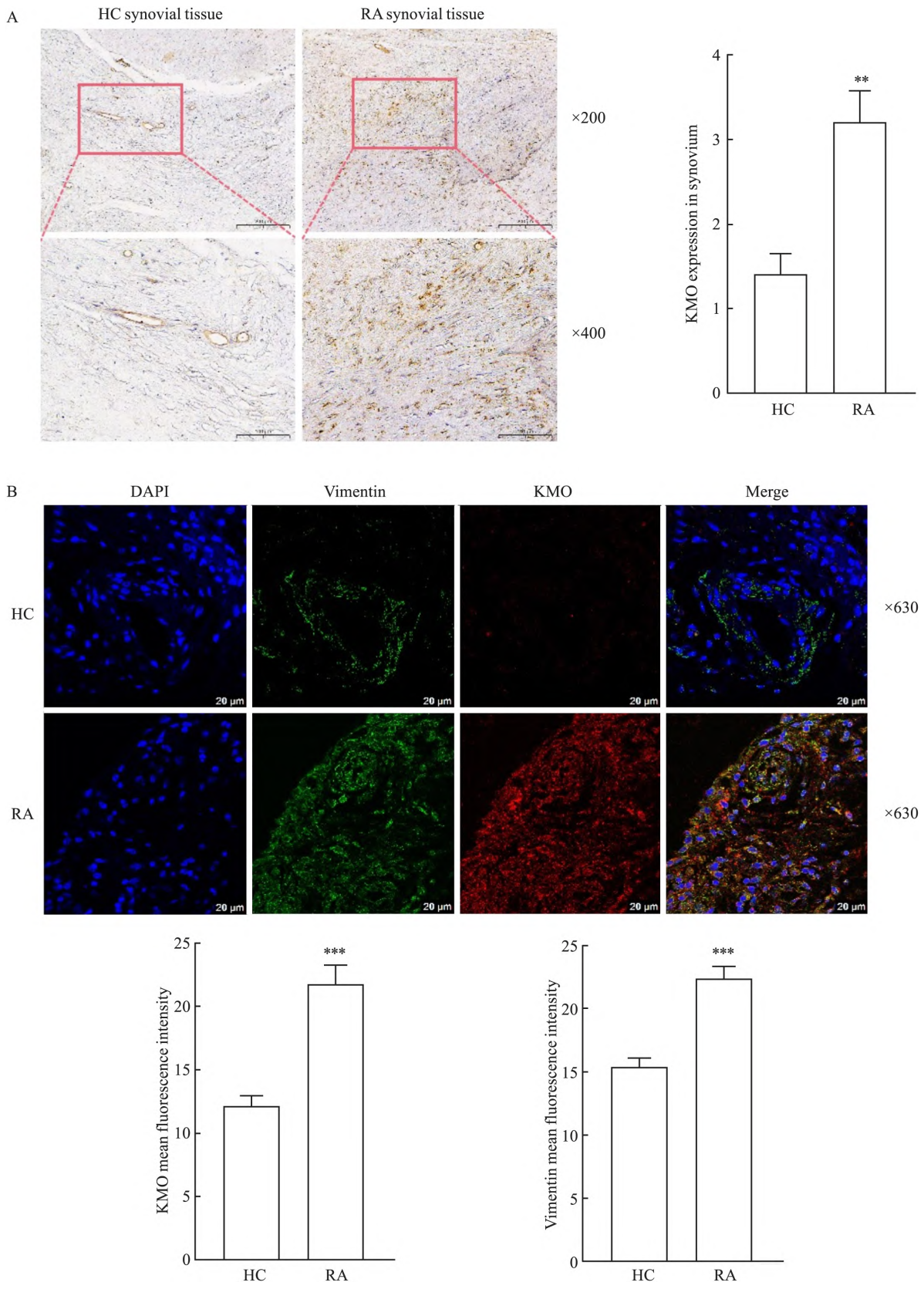

图 5　HC 组和 RA 组滑膜组织及 FLS 中 KMO 的表达($n=5$)

Fig. 5　The expression of KMO in synovial tissue and FLS in HC and RA groups($n=5$)

A: Immunohistochemical map of KMO expression in synovial tissue of HC and RA groups; B: Immunofluorescence plots of KMO expression in FLS of synovial tissue in HC and RA groups; $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$ *vs* HC group.

中国知网 https://www.cnki.net

佐剂诱导关节炎(adjuvant-induced arthritis,AA)大鼠的滑膜组织FLS中表达升高,并且促进FLS的增殖、迁移和侵袭功能,进而介导滑膜炎症和关节破坏,体内给予TDO2抑制剂别嘌醇后明显缓解关节滑膜炎症。以上结果表明,KP代谢紊乱参与了RA病理机制和病理进程,而靶向KP途径中的重要代谢酶可能成为RA治疗的新思路。

KMO作为KP的重要限速酶之一,参与了自身免疫病的发生发展。Shi et al[12]发现在活动性溃疡性结肠炎(ulcerative colitis,UC)患者和葡聚糖硫酸钠(dextran sodium sulfate,DSS)诱导的UC模型小鼠的结肠组织中,KMO表达升高,UC小鼠体内给予KMO特异性抑制剂Ro61-8048明显改善DSS诱导的实验性结肠炎。Tashita et al[13]研究表明,KMO缺失可抑制2,4,6-三硝基苯磺酸诱导的小鼠结肠炎,这可能与KMO缺失引起的Kyn水平升高进而诱导肠道调节性T细胞产生抗炎细胞因子有关。Sundaram et al[14]研究发现在实验性自身免疫脑脊髓炎模型小鼠体内给予Ro61-8048后,小鼠临床评分明显改善,可能是由于抑制KMO减少神经毒性3-HK的产生,发挥神经保护作用。以上研究表明,KMO活性与表达升高参与了自身免疫病的疾病进程,但在RA中的作用国内外未见报道。

为进一步了解KMO与RA之间的关系,本研究检测了KMO在HC和RA患者PBMC中的表达情况,结果显示,KMO在RA患者PBMC中的表达高于HC,并从临床角度出发分析RA患者PBMC中KMO基因表达与DAS28和炎症指标之间的关系,结果表明,KMO基因表达与DAS28及炎症指标ESR、RF呈正相关,提示KMO介导的KP紊乱可能参与了RA炎症免疫反应。RA患者滑膜组织中,滑膜衬里层FLS增生,滑膜衬里下层浸润大量免疫细胞,分泌炎性因子导致滑膜炎症,造成软骨和骨损伤。本研究结果表明KMO在RA患者滑膜组织FLS中表达增加,提示KMO可能通过调控FLS异常活化,加重关节滑膜炎症。鉴于KMO主要定位于线粒体外膜,并且有相关文献报道[15],KMO参与调节线粒体功能,而FLS中线粒体功能障碍会促进FLS增殖和侵袭、抑制FLS凋亡,进而促进RA发展。提示KMO可能通过调节线粒体功能进而介导FLS异常活化促进RA病情进展,具体分子机制有待进一步研究。

综上所述,本研究首次揭示了KMO在RA患者中的表达情况及临床意义,并提示KMO可能通过介导RA-FLS异常活化促进RA病程。KMO介导的KP代谢通路在RA中发生代谢失衡,并参与炎症免疫反应进而促进RA进展。

参考文献

[1] Di Matteo A, Bathon J M, Emery P. Rheumatoid arthritis [J]. Lancet, 2023, 402(10416): 2019-33. doi: 10.1016/S0140-6736(23)01525-8.

[2] Moulin D, Millard M, Taïeb M, et al. Counteracting tryptophan metabolism alterations as a new therapeutic strategy for rheumatoid arthritis [J]. Ann Rheum Dis, 2024, 83(3): 312-23. doi: 10.1136/ard-2023-224014.

[3] Schroecksnadel K, Winkler C, Duftner C, et al. Tryptophan degradation increases with stage in patients with rheumatoid arthritis [J]. Clin Rheumatol, 2006, 25(3): 334-7. doi: 10.1007/s10067-005-0056-6.

[4] Smith J R, Jamie J F, Guillemin G J. Kynurenine-3-monooxygenase: a review of structure, mechanism, and inhibitors [J]. Drug Discov Today, 2016, 21(2): 315-24. doi: 10.1016/j.drudis.2015.11.001.

[5] Chen Y, Zhang J, Yang Y, et al. Kynurenine-3-monooxygenase (KMO): from its biological functions to therapeutic effect in diseases progression [J]. J Cell Physiol, 2022, 237(12): 4339-55. doi: 10.1002/jcp.30876.

[6] Aletaha D, Neogi T, Silman A J, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American college of rheumatology/european league against rheumatism collaborative initiative [J]. Arthritis Rheum, 2010, 62(9): 2569-81. doi: 10.1002/art.27584.

[7] Cribbs A P, Kennedy A, Penn H, et al. Treg cell function in rheumatoid arthritis is compromised by CTLA-4 promoter methylation resulting in a failure to activate the indoleamine 2, 3-dioxygenase pathway [J]. Arthritis Rheumatol, 2014, 66(9): 2344-54. doi: 10.1002/art.38715.

[8] Filippini P, Del Papa N, Sambataro D, et al. Emerging concepts on inhibitors of indoleamine 2, 3-dioxygenase in rheumatic diseases [J]. Curr Med Chem, 2012, 19(31): 5381-93. doi: 10.2174/092986712803833353.

[9] Merlo L M F, Grabler S, Du Hadaway J B, et al. Therapeutic antibody targeting of indoleamine-2, 3-dioxygenase (IDO2) inhibits autoimmune arthritis [J]. Clin Immunol, 2017, 179: 8-16. doi: 10.1016/j.clim.2017.01.016.

[10] He G, Wan S, Wu Y, et al. Discovery of the first selective IDO2 inhibitor as novel immunotherapeutic avenues for rheumatoid arthritis [J]. J Med Chem, 2022, 65(21): 14348-65. doi: 10.1021/acs.jmedchem.2c00263.

[11] Chang Y, Han P, Wang Y, et al. Tryptophan 2, 3-dioxygenase 2 plays a key role in regulating the activation of fibroblast-like synoviocytes in autoimmune arthritis [J]. Br J Pharmacol, 2022, 179(12): 3024-42. doi: 10.1111/bph.15787.

[12] Shi Y, Luo S, Zhai J, et al. A novel causative role of imbalanced kynurenine pathway in ulcerative colitis: upregulation of KMO and

中国知网 https://www.cnki.net

KYNU promotes intestinal inflammation [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2024, 1870(2): 166929. doi: 10.1016/j.bbadis.2023.166929.

[13] Tashita C, Hoshi M, Hirata A, et al. Kynurenine plays an immunosuppressive role in 2, 4, 6-trinitrobenzene sulfate-induced colitis in mice [J]. World J Gastroenterol, 2020, 26(9): 918-32. doi: 10.3748/wjg.v26.i9.918.

[14] Sundaram G, Lim C K, Brew B J, et al. Kynurenine pathway modulation reverses the experimental autoimmune encephalomyelitis mouse disease progression [J]. J Neuroinflammation, 2020, 17(1): 176. doi: 10.1186/s12974-020-01844-y.

[15] Maddison D C, Alfonso-Núñez M, Swaih A M, et al. A novel role for kynurenine 3-monooxygenase in mitochondrial dynamics [J]. PLoS Genet, 2020, 16(11): e1009129. doi: 10.1371/journal.pgen.1009129.

Expression and significance of kynurenine-3-monooxygenase in peripheral blood mononuclear cells and synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis

Zong Xuemei[1], Lin Qianqian[1], Chen Yuelan[1], Wang Xinming[2], Wei Wei[1], Yan Shangxue[1,3], Chang Yan[1,3]

([1]*Institute of Clinical Pharmacology, School of Pharmaceutical Sciences, Anhui Medical University, Key Laboratory of Anti-inflammatory and Immunological Drugs, Ministry of Education, Anhui Collaborative Innovation Center for Anti-inflammatory and Immune Drugs, Hefei* 230032; [2]*Dept of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei* 230022; [3]*Laboratory Animal Center, Anhui Medical University, Hefei* 230032)

Abstract ***Objective*** To investigate the expression and clinical significance of kynurenine-3-monooxygenase (KMO) in peripheral blood mononuclear cells (PBMC), synovial tissue, and fibroblastic-like synovial cells (FLS) of rheumatoid arthritis (RA) patients. ***Methods*** Peripheral blood samples from 25 healthy control (HC) individuals and 25 patients diagnosed with RA were collected, and real-time fluorescence quantitative PCR and Western blot were used to detect KMO gene and protein expression in PBMC of RA and HC groups, and to analyze the correlation between the expression level of the KMO gene in the PBMC of the RA patients and the indexes of the laboratory tests. Meanwhile, immunohistochemistry and immunofluorescence were used to detect KMO expression in synovial tissue and FLS in RA and HC groups. ***Results*** ① KMO gene and protein expression in PBMC of RA group were higher than that of HC group, and the difference was statistically significant ($P<0.001$). ② The level of KMO gene expression in PBMC of RA group was positively correlated with disease activity index 28 score, blood sedimentation, and rheumatoid factor ($r_s=0.417$, $P=0.038$; $r=0.545$, $P=0.005$; $r_s=0.433$, $P=0.031$), and had no correlation with C-reactive protein and anti-cyclic citrullinated polypeptide antibody. ③ KMO expression in synovial tissue of RA group was higher than that of HC group, and the difference was statistically significant ($P<0.01$); KMO expression in FLS of synovial tissue of RA group was higher than that of HC group, and the difference was statistically significant ($P<0.001$). ***Conclusion*** KMO expression increases in PBMC, synovial tissue and FLS of RA patients, and the level of KMO gene expression is correlated with the disease activity of RA patients, suggesting that KMO may promote the course of RA.

Key words rheumatoid arthritis; kynurenine 3-monooxygenase; kynurenine; 3-hydroxykynurenine; peripheral blood mononuclear cells; synovial tissue; fibroblast-like synoviocytes

Fund programs Natural Science Foundation of Anhui Province (No. 2108085MH320); Research Project of Anhui Provincial Institute of Translational Medicine (No. 2023zhyx-C11)

Corresponding authors Wang Xinming, E-mail: wangxinming@ahmu.edu.cn; Chang Yan, E-mail: yychang@ahmu.edu.cn

中国知网 https://www.cnki.net