

犬尿氨酸-3-单加氧酶抑制剂 GSK180 改善大鼠创伤性脓毒症诱导急性肾损伤的机制研究

钱东旭^{1,2} 孙百胜² 戴智³ 韩子伟^{1,4} 毛智² 周飞虎^{1,2}

¹解放军医学院,北京 100853; ²解放军总医院第一医学中心重症医学科,北京 100853; ³首都医科大学附属北京世纪坛医院急危重症医学中心外科重症医学科,北京 100089; ⁴解放军陆军第九五一医院急危重症医学科,库尔勒 841000

通信作者:周飞虎,Email: feihuzhou301@126.com

【摘要】目的 探讨犬尿氨酸-3-单加氧酶(KMO)抑制剂 GSK180 对创伤性脓毒症(TIS)诱导的急性肾损伤(AKI)的保护作用,并研究其潜在的作用机制。**方法** 将 SPF 级健康雄性 SD 大鼠按照随机数字表法分组。① 设立正常对照组、假手术(Sham)组及 TIS 12、24、48 h 组,每组保留 6 只存活大鼠用于统计分析。正常对照组不作任何处理;Sham 组仅行开腹探查及盲肠轻翻动操作后关腹,术后皮下注射 40 mL/kg 生理盐水补液,直至大鼠恢复自主活动;TIS 各组采用复合损伤方式建立 TIS 致 AKI 模型,术后处理同 Sham 组。于各时间点采集样本,检测白细胞计数(WBC)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)、C-反应蛋白(CRP)等炎症指标及血肌酐(SCr)、血尿素氮(BUN),评估炎症反应与肾损伤。基于肾损伤严重程度,选取相应组别肾组织进行蛋白质组学分析,筛选候选、靶蛋白进行相关机制干预实验。② 在 KMO 抑制剂干预实验中,将大鼠随机分为 Sham 组、TIS 组及 KMO 抑制剂干预组,每组保留 6 只存活大鼠用于统计分析。Sham 组与 TIS 组操作同前;KMO 抑制剂干预组于制模后 2 h 腹腔注射 KMO 抑制剂 GSK180 (10 mg/kg),Sham 组与 TIS 组则腹腔注射等体积生理盐水。术后 24 h 检测上述炎症及肾功能指标;采用高碘酸-雪夫(PAS)染色观察肾组织病理学改变;采用原位末端转移酶标记法(TUNEL)染色,观察肾组织细胞凋亡情况;透射电镜下观察肾小管线粒体超微结构改变;采用流式细胞仪检测线粒体活性氧(ROS)及膜电位;采用蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)检测 KMO、线粒体动力学相关蛋白[动力相关蛋白 1(DRP1)及其 Ser616 位点磷酸化(p-DRP1 Ser616)、线粒体融合蛋白 2(MFN2)、视神经萎缩蛋白 1(OPA1)]和促凋亡蛋白 Bcl-2 相关 X 蛋白(BAX)的表达。**结果** ① 与正常对照组相比,TIS 组大鼠各时间点均出现显著的炎症反应和肾功能损伤,24 h 达峰值,提示该时间点肾损伤最为严重。蛋白质组学分析显示,TIS 24 h 组肾组织 KMO 表达较正常对照组上调,故将其选作后续干预靶点。② KMO 抑制剂干预实验结果显示,与 Sham 组比较,TIS 组大鼠表现出全身性炎症反应及肾功能损伤,病理观察显示肾损伤、细胞凋亡加重及超微结构损伤,细胞内 ROS 水平升高,线粒体膜电位下降,线粒体动力学失衡;与 TIS 组相比,KMO 抑制剂可同时改善 TIS 大鼠全身炎症反应和肾功能,WBC、TNF- α 、IL-6、CRP、SCr、BUN 水平均降低[WBC($\times 10^9/L$): 9.87 \pm 2.74 比 25.10 \pm 3.55, TNF- α (ng/L): 213.61 \pm 81.47 比 820.59 \pm 105.13, IL-6(ng/L): 986.98 \pm 105.54 比 2 376.28 \pm 211.80, CRP(ng/L): 1 149.55 \pm 405.60 比 3 355.76 \pm 439.79, SCr(μ mol/L): 57.67 \pm 12.36 比 129.67 \pm 10.52, BUN(mmol/L): 11.63 \pm 2.60 比 21.53 \pm 4.31, 均 $P < 0.05$],减轻肾组织病理学改变,改善肾小管线粒体超微结构损伤,降低线粒体 ROS 水平并稳定膜电位,且细胞凋亡及线粒体动力学平衡均得到改善,DRP1 Ser616 磷酸化水平与 BAX 表达均下降[p-DRP1 Ser616 蛋白(p-DRP1 Ser616/DRP1): 0.88 \pm 0.15 比 1.63 \pm 0.13, BAX 蛋白(BAX/GAPDH): 1.24 \pm 0.13 比 2.40 \pm 0.26, 均 $P < 0.05$],且伴随 MFN2、OPA1 表达上调[MFN2 蛋白(MFN2/GAPDH): 1.09 \pm 0.08 比 0.63 \pm 0.03, OPA1 蛋白(OPA1/GAPDH): 1.13 \pm 0.07 比 0.74 \pm 0.14, 均 $P < 0.05$]。**结论** KMO 在 TIS 诱导 AKI 中表达上调,是介导肾损伤的关键因子。KMO 抑制剂 GSK180 通过抑制 DRP1 介导的线粒体分裂、促进 MFN2/OPA1 依赖的线粒体融合,改善线粒体功能,并减轻炎症、氧化应激与细胞凋亡,发挥肾脏保护作用。

【关键词】 创伤性脓毒症;急性肾损伤;犬尿氨酸-3-单加氧酶;线粒体功能

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20251011-00502

Mechanism of kynurenine 3-monooxygenase inhibitor GSK180 in alleviating trauma-induced sepsis-induced acute kidney injury in rats

Qian Dongxu^{1,2}, Sun Baisheng², Dai Zhi³, Han Ziwei^{1,4}, Mao Zhi², Zhou Feihu^{1,2}

¹Medical School of Chinese PLA, Beijing 100853, China; ²Department of Critical Care Medicine, The First Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China; ³Department of Surgical Intensive Care Unit, Emergency and Critical Care Medical Center, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100089, China; ⁴Department of Critical Care Medicine, Chinese PLA 951 Hospital, Korla 841000, China

Corresponding author: Zhou Feihu, Email: feihuzhou301@126.com

【Abstract】Objective To investigate the protective effect of kynurenine 3-monooxygenase (KMO) inhibitor GSK180 against trauma-induced sepsis (TIS)-induced acute kidney injury (AKI) and to explore its underlying mechanism.

Methods Male SPF healthy Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into groups using a random number table. ① A normal control group, a sham-operated (Sham) group, and TIS groups at 12, 24, and 48 hours were established, and 6 surviving rats were finally retained in each group for statistical analysis. The normal control group received no treatment. The Sham group was subjected only to laparotomy exploration and gentle cecal palpation followed by abdominal closure, and 40 mL/kg normal saline was injected subcutaneously for fluid resuscitation after surgery until the rats recovered voluntary movement. TIS groups were treated with combined injury to establish the TIS-induced AKI model, and postoperative management was identical to that of the Sham group. Samples were collected at each time point to detect inflammatory indicators such as white blood cell count (WBC), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), and C-reactive protein (CRP), as well as serum creatinine (SCr) and blood urea nitrogen (BUN) to evaluate inflammatory response and renal injury. Based on the severity of renal injury, renal tissues of the corresponding groups were harvested for proteomic analysis to screen candidate target proteins for related mechanistic intervention experiments. ② In the KMO inhibitor intervention experiment, rats were randomly divided into the Sham group, TIS group, and KMO inhibitor intervention group, with 6 surviving rats retained in each group for statistical analysis. Procedures in the Sham and TIS groups were the same as described above; the KMO inhibitor intervention group was intraperitoneally injected with the KMO inhibitor GSK180 (10 mg/kg) at 2 hours after model establishment, while the Sham and TIS groups were intraperitoneally injected with an equal volume of normal saline. The above inflammatory and renal function indicators were detected at 24 hours after surgery. Periodic acid-Schiff (PAS) staining was used to observe histopathological changes of renal tissues. Terminal-deoxynucleotidyltransferase-mediated dUTP nick-end labeling (TUNEL) staining was adopted to observe cell apoptosis in renal tissues. Mitochondrial ultrastructure changes were examined by transmission electron microscopy. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and membrane potential were detected by flow cytometry. Western blotting was performed to determine the expression of KMO, mitochondrial dynamics-related proteins [dynamin-related protein 1 (DRP1) and its phosphorylated form at Ser616 (p-DRP1 Ser616), mitofusin 2 (MFN2), optic atrophy protein 1 (OPA1)], and the apoptosis-inducing protein Bcl-2-associated X protein (BAX). **Results** ① Compared with the normal control group, significant inflammatory response and renal function injury were observed in TIS groups at all-time points, and peaked at the 24 hours, indicating the most severe renal injury at this time point. Proteomic analysis showed that KMO expression was upregulated in renal tissues of the TIS 24-hour group compared with the normal control group, which was thus selected as the target for subsequent intervention. ② The KMO inhibitor intervention experiment showed that compared with the Sham group, the rats in the TIS group exhibited systemic inflammatory response and renal dysfunction. Pathological observations revealed aggravated renal damage, increased cell apoptosis, and ultrastructural damage. The level of intracellular ROS was elevated, mitochondrial membrane potential was decreased, and mitochondrial dynamics were imbalanced. Compared with the TIS group, KMO inhibition could improve both systemic inflammatory response and renal function, the levels of WBC, TNF- α , IL-6, CRP, SCr, and BUN were decreased [WBC ($\times 10^9/L$): 9.87 ± 2.74 vs. 25.10 ± 3.55 , TNF- α (ng/L): 213.61 ± 81.47 vs. 820.59 ± 105.13 , IL-6 (ng/L): 986.98 ± 105.54 vs. 2376.28 ± 211.80 , CRP (ng/L): 1149.55 ± 405.60 vs. 3355.76 ± 439.79 , SCr ($\mu\text{mol/L}$): 57.67 ± 12.36 vs. 129.67 ± 10.52 , BUN (mmol/L): 11.63 ± 2.60 vs. 21.53 ± 4.31 , all $P < 0.05$], alleviated histopathological changes in the kidney, ameliorated mitochondrial ultrastructural damage in renal cells, reduced mitochondrial ROS levels and stabilized membrane potential, and both cell apoptosis and mitochondrial dynamics balance had been improved, the phosphorylation level of DRP1 Ser616 and BAX expression were both decreased [p-DRP1 Ser616 protein (p-DRP1 Ser616/DRP1): 0.88 ± 0.15 vs. 1.63 ± 0.13 , BAX protein (BAX/GAPDH): 1.24 ± 0.13 vs. 2.40 ± 0.26 , both $P < 0.05$], accompanied by upregulated expression of MFN2 and OPA1 [MFN2 protein (MFN2/GAPDH): 1.09 ± 0.08 vs. 0.64 ± 0.03 , OPA1 protein (OPA1/GAPDH): 1.13 ± 0.07 vs. 0.74 ± 0.14 , both $P < 0.05$]. **Conclusions** KMO is upregulated in TIS-induced AKI and serves as a key factor mediating renal injury. The KMO inhibitor GSK180 exerts renal protective effects by inhibiting DRP1-mediated mitochondrial fission, promoting MFN2/OPA1-dependent mitochondrial fusion, improving mitochondrial function, and alleviating inflammation, oxidative stress and cell apoptosis.

【Key words】 Trauma-induced sepsis; Acute kidney injury; Kynurenine 3-monooxygenase; Mitochondrial function
DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20251011-00502

创伤是全球范围内导致全年龄段人群死亡的主要原因之一,其危害不仅在于直接的组织结构与功能损伤,还可引起继发性感染等严重并发症,显著影响患者预后^[1]。开放性伤口、组织坏死及免疫屏障破坏,为病原体侵入创造了条件,易引发感染并进一步发展为创伤性脓毒症(trauma-induced sepsis, TIS)^[2]。TIS病情进展迅速,病理机制复杂,常并发多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)^[3]。急性肾损伤(acute kidney injury,

AKI)是TIS过程中常见且较早出现的器官并发症之一^[4]。临床研究显示,TIS患者AKI的发生率显著高于普通人群,并与患者住院时间延长、透析治疗需求增加、病死率升高等密切相关^[5]。目前,TIS相关AKI的分子机制尚未完全明确,缺乏有效的早期干预措施,是重症医学面临的突出问题。

近年研究表明,线粒体功能障碍在AKI肾小管上皮细胞损伤中起关键作用,但其调控机制仍未完全阐明^[6]。异常线粒体分裂是导致肾小管细胞凋

亡的重要机制之一,其中动力相关蛋白 1(dynamitin-related protein 1, DRP1)作为调控线粒体分裂的核心蛋白,其过度激活可加剧细胞损伤^[7]。然而,在 TIS 相关 AKI 中 DRP1 的活性上游调控因子及其作用路径目前尚不清楚。犬尿氨酸-3-单加氧酶(kynurenine 3-monooxygenase, KMO)是色氨酸代谢通路的关键酶,位于线粒体外膜^[8]。KMO 已被报道参与多种炎症相关疾病过程,如急性胰腺炎诱导的多器官损伤、脓毒症相关急性肺损伤、帕金森病神经炎症、缺血再灌注相关 AKI 等^[9-11]。目前鲜见探讨 KMO 在 TIS 相关 AKI 中作用的研究,尤其是 KMO 是否通过调控 DRP1 磷酸化影响线粒体动力学及细胞凋亡尚属未知。因此,本研究旨在通过构建 TIS 大鼠模型,分析 KMO 在肾组织中的表达变化,并探讨其是否通过调节 DRP1 磷酸化参与线粒体分裂融合平衡及细胞凋亡过程,同时采用 KMO 特异性抑制剂 GSK180 干预,评价其对肾脏的保护作用及机制,以期为临床防治 TIS 相关 AKI 提供新的理论依据和潜在治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 实验动物:选用 6~8 周龄、体质量 200~220 g 的健康雄性 SD 大鼠(SPF 级),购自北京维通利华实验动物技术有限公司〔动物许可证号:SCXK(京)2021-0006〕,饲养于恒温[(22±2)℃]、恒湿(相对湿度 50%~60%)环境,昼夜交替光照 12 h。大鼠禁食过夜,仅提供饮水。所有手术均在 2% 戊巴比妥钠(40 mg/kg,腹腔注射)麻醉下完成,术中持续保温,术后皮下注射 40 mL/kg 生理盐水补液,直至恢复自主活动。本实验中所有操作符合动物伦理学标准,并通过解放军总医院实验动物福利伦理委员会审查批准(审批号:2023-X19-63)。

1.2 实验动物分组及模型构建:大鼠适应性饲养后,按照随机数字表法分为正常对照组、假手术(Sham)组及 TIS 12、24、48 h 组,每组最终保留 6 只存活大鼠用于统计分析。正常对照组不作任何处理,于相应时间点实施麻醉并采集样本,用于获取基础生理及生化数据。Sham 组仅行开腹探查及盲肠轻翻动操作后关腹。TIS 各组参照以往研究方法,采用复合损伤方式建立 TIS 相关 AKI 模型^[12]。首先采用微型骨钳施加压力于一侧胫腓骨中段,造成闭合性骨折(以骨断端明显移位为标志),模拟创伤状态;维持麻醉下,参考盲肠结扎穿孔术(cecal ligation and puncture, CLP)施行二次操作^[13],模拟临床创伤后继发感染的病理过程。本研究参考肾脏疾病模型研究

经典文献^[14],将术后血肌酐(serum creatinine, SCr)水平升高至正常对照组基准值 2 倍以上作为肾损伤模型制备成功的标准。

在 KMO 抑制剂干预实验中,将大鼠按照随机数字表法分为 Sham 组、TIS 组及 KMO 抑制剂干预组,每组保留 6 只存活大鼠用于统计分析。Sham 组与 TIS 组操作同前。KMO 抑制剂干预组于制模后 2 h 腹腔注射 KMO 抑制剂 GSK180(10 mg/kg),给药剂量参照既往研究^[9];Sham 组与 TIS 组腹腔注射等体积生理盐水。术后 24 h 统一取材用于后续检测。

1.3 组织标本取材方式:术后密切观察各组大鼠一般状态,并于设定时间点(12、24、48 h)对相应组别大鼠实施取材。大鼠经深度麻醉后固定,经腹主动脉采集全血,分离血清与血浆,分装后分别于 4℃ 暂存或者 -80℃ 长期保存,用于后续检测白细胞计数(white blood cell count, WBC)、炎症因子〔肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)]及肾功能指标〔SCr、血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)]。

取血后,经左心室插管进行生理盐水全身灌注,直至肾脏颜色变白,迅速取出双侧肾脏。一侧肾脏沿冠状面纵切,取适量组织于 4% 多聚甲醛中固定,用于石蜡包埋、后续病理学检查及细胞凋亡检测;另一侧肾脏于冰上操作,取适量新鲜组织置于预冷磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)中,用于制备单细胞悬液进行流式细胞仪检测;切取皮髓质交界处约 1 mm×1 mm×1 mm 组织块置于 2.5% 戊二醛中固定,用于透射电镜下观察超微结构;剩余组织迅速投入液氮冷冻,随后转移至 -80℃ 保存,用于后续蛋白质提取、蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)及蛋白质组学分析。

1.4 酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)测定血清 TNF-α、IL-6、CRP 的水平:取大鼠血清样本,按照 TNF-α、IL-6、CRP ELISA 试剂盒说明书操作。将待测血清及标准品加入酶标板孔,每个样本设 2 个复孔;按照说明书要求,依次加入相应抗体及检测试剂,并在指定温度和时间内孵育,各步骤间使用洗涤液充分洗涤;最后于 37℃ 避光条件下加入显色液反应 15 min,终止反应后,立即于酶标仪上读取 450 nm 处吸光度值。根据标准曲线计算各样本中 TNF-α、IL-6、CRP 水平。

1.5 肾功能检测:大鼠经麻醉后,取仰卧位固定,行

腹部正中切口,充分暴露腹主动脉。使用真空采血管采集血液 2~3 mL,注入普通离心管中,3 000 r/min (离心半径 8 cm)离心 15 min,分离上层血清,分装后置于 4 °C 保存。采用全自动生化分析仪检测 SCr 和 BUN 水平。

1.6 定量蛋白质组学分析:基于术后 24 h 评估结果,选取 TIS 24 h 组与正常对照组大鼠肾组织进行蛋白质组学分析比较。组织总蛋白经裂解提取、定量后,进行还原烷基化、胰酶酶解和肽段脱盐。肽段经纳升液相色谱分离后,采用高分辨率质谱进行数据依赖性采集。原始数据通过数据库检索进行蛋白质鉴定与无标记定量。采用 R 语言进行统计学分析,差异表达蛋白(differentially expressed protein, DEP)筛选标准: $|FC| > 2$ (即 $FC > 2$ 或 $FC < 0.5$; FC 代表差异倍数)且 $P < 0.05$ 。对筛选获得的 DEP 进行京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路富集分析,以识别显著改变的代谢与信号通路。

1.7 肾组织病理学观察:采用高碘酸-雪夫(periodic acid-Schiff, PAS)染色法观察肾小球、肾小管基底膜、管型等结构。取 4% 多聚甲醛固定的肾组织,经梯度乙醇脱水、石蜡包埋后,制备 4 μ m 厚石蜡切片;切片经脱蜡至水后,加入高碘酸溶液氧化 10 min,蒸馏水冲洗;随后置于 Schiff 试剂中避光反应 15~20 min,苏木素复染细胞核,分化返蓝;最后梯度乙醇脱水、透明、中性树胶封片。参照既往文献报告的方法制定肾脏损伤分级评分标准^[15],请两位经验丰富的病理专家采用盲法进行独立病理评分,每组取 3 张病理切片,每张病理切片取 10 个 400 倍视野进行评分。评分标准:肾小管明显扩张、细胞扁平或刷状缘损伤记 1 分;上皮细胞核固缩、空泡或颗粒样变性记 1 分;管腔内见坏死脱落细胞记 1 分;刷状缘脱落伴管型形成记 2 分。各视野内上述项目得分累加为该视野总分。

1.8 细胞凋亡检测:取石蜡切片,经脱蜡、水化及 PBS 清洗后,采用原位末端转移酶标记法(terminal-deoxynucleotidyltransferase-mediated dUTP-biotin nick end label, TUNEL)染色,按照试剂盒说明书处理。蛋白酶 K (20 μ g/mL) 37 °C 处理 15 min, PBS 洗涤后加 TUNEL 反应液, 37 °C 避光孵育 60 min; PBS 清洗后,用 4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)染核。荧光显微镜下每张切片随机选取 10 个视野,计算细胞凋亡率(细胞凋亡

率=TUNEL 阳性细胞数/总细胞数 \times 100%),取 3 张切片平均值作为最终结果。

1.9 肾小管上皮细胞超微结构观察:肾组织经 2.5% 戊二醛 4 °C 固定 24 h, PBS 漂洗后, 1% 锇酸 4 °C 固定 1 h, 丙酮梯度脱水, 环氧树脂包埋并聚合。超薄切片(50 nm)经醋酸铀酰和枸橼酸铅双染后,于透射电镜下观察肾小管上皮细胞线粒体超微结构改变,每组至少观察 3 个样本各 3 个视野。

1.10 线粒体活性氧(reactive oxygen species, ROS)检测:取 1×10^6 个单细胞悬液,以 10 μ mol/L 2,7-二氯荧光素二乙酸酯(2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate, DCFH-DA; PBS 1:1 000 稀释) 1 mL 重悬, 37 °C 避光孵育 20 min。PBS 洗涤后重悬,流式细胞仪异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)通道检测荧光强度,荧光强度与 Sham 组归一化处理。

1.11 线粒体膜电位检测:取 1×10^6 个单细胞悬液,按说明书配制 JC-1 工作液并重悬细胞, 37 °C 避光孵育 20 min [阳性对照加羰基氰化物间氯苯胺(carbonyl cyanide 3-chloro phenylhydrazine, CCCP)]。JC-1 染色缓冲液洗涤两次后重悬,流式细胞仪检测绿色荧光强度。绿色荧光强度越高,表明线粒体膜电位越低,提示线粒体功能损伤或凋亡越明显;绿色荧光强度越低,表明膜电位越高,提示线粒体功能越正常。荧光强度与 Sham 组归一化处理。

1.12 Western blotting:肾组织从 -80 °C 取出后,加入预冷 RIPA 裂解液(含蛋白酶抑制剂)匀浆,冰上裂解 30 min, 4 °C 离心后取上清液;采用 BCA 法测定蛋白浓度;取等量蛋白经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)分离后,转至硝酸纤维素膜, 5% 牛血清白蛋白室温封闭 1.5 h, 随后与一抗 4 °C 孵育过夜。一抗包括 DRP1 (1:1 000)、磷酸化 DRP1 (phospho-DRP1, p-DRP1; 1:1 000)、KMO (1:1 000)、线粒体融合蛋白 2 (mitofusin 2, MFN2; 1:1 000)、视神经萎缩蛋白 1 (optic atrophy 1, OPA1; 1:1 000)、3-磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH; 1:5 000)。次日,用含吐温 20 的 Tris 缓冲液(Tris buffered saline with Tween, TBST)洗膜,与辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记二抗(1:1 000)室温孵育 2 h, 增强型化学发光试剂(enhanced chemiluminescence, ECL)显影。使用 Image J 软件分析条带灰度值,以 GAPDH 为内参进行标准化。

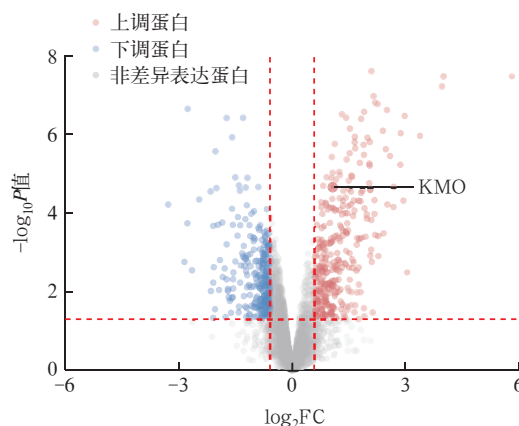
1.13 统计学分析:应用 GraphPad Prism 10.1 软件进行统计学分析和图表绘制。计量资料若符合正态分布,则以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间数据比较采用单因素方差分析,并通过 Tukey 检验进行后续多重比较;若呈非正态分布,则以中位数(四分位数) [$M(Q_1, Q_3)$]表示,多组间比较采用 Kruskal-Wallis H 非参数检验,组间进一步两两比较采用 Dunn 多重比较检验。检验水准 $\alpha = 0.05$ (双侧)。

2 结果

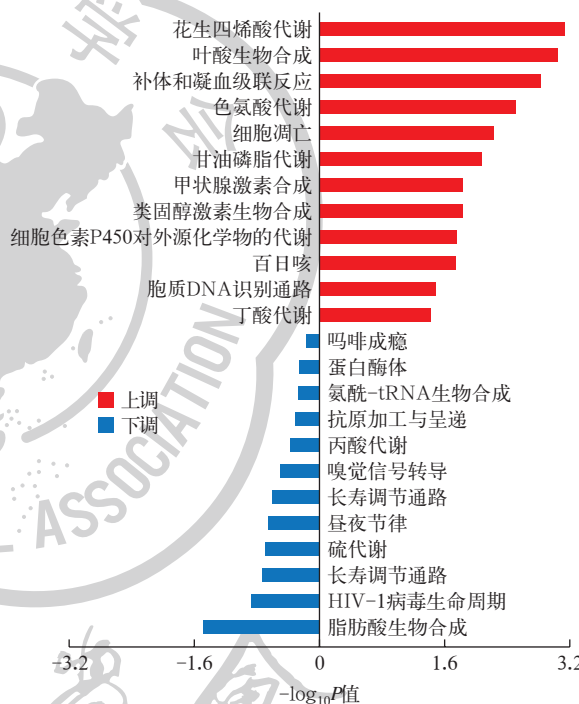
2.1 TIS 建模后大鼠一般情况、炎症反应及肾损伤情况:正常对照组大鼠状态良好,食欲、毛色、活动均正常,体质量持续增长;Sham 组大鼠食欲与正常对照组接近,但活动量与体质量略有下降;TIS 组大鼠状态较差,表现为食欲减退、毛发杂乱、眼鼻分泌物增多、活动减少、体质量显著下降,并伴有精神萎靡与反应迟缓。

表 1 显示,在炎症指标方面,TIS 建模后大鼠外周血 WBC 呈升高趋势,24 h 达峰值,与正常对照组差异有统计学意义 ($P < 0.05$),且血清 TNF- α 、IL-6、CRP 水平也高于正常对照组 (均 $P < 0.05$),提示 TIS 建模 24 h 大鼠出现全身性高炎症反应。在肾功能方面,与正常对照组相比,TIS 各组 SCr 水平均升高,并于 24 h 达峰值 ($P < 0.05$),且 BUN 水平变化与 SCr 一致 ($P < 0.05$),表明 TIS 建模导致大鼠出现明显肾功能损伤,且 24 h 时损伤最严重。由此可见,TIS 诱导 AKI 24 h 时,炎症反应与肾功能损伤均最显著,因此该时间点被确定为后续机制研究的关键时间窗口。

2.2 蛋白质组学分析:与正常对照组相比,TIS 24 h 组大鼠肾组织鉴定出 552 个 DEP,其中上调 301 个,下调 251 个(图 1)。KEGG 通路富集分析显示(图 2),色氨酸代谢通路在 TIS 24 h 组显著富集;进一步分析发现,该通路中关键酶 KMO 的表达在 TIS 24 h 组较正常对照组上调。以上结果提示,色氨酸代谢通路在 TIS 诱导 AKI 过程中被激活,KMO 作为该通路的关键限速酶,可能参与 TIS 相关 AKI 的疾病进程。



注:TIS 为创伤性脓毒症,FC 为差异倍数,KMO 为犬尿氨酸-3-单加氧酶
图 1 正常对照组与 TIS 24 h 组大鼠肾组织差异表达蛋白火山图



注:TIS 为创伤性脓毒症,KEGG 为京都基因与基因组百科全书,HIV-1 为人类免疫缺陷病毒-1 亚型
图 2 正常对照组与 TIS 24 h 组大鼠肾组织差异表达蛋白 KEGG 通路富集分析

2.3 抑制 KMO 对 TIS 大鼠炎症反应及肾功能的影响(表 2):与 TIS 组相比,KMO 抑制剂干预组大鼠

表 1 各组大鼠炎症指标及肾功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	WBC ($\times 10^9/L$)	TNF- α (ng/L)	IL-6 (ng/L)	CRP (ng/L)	SCr ($\mu\text{mol/L}$)	BUN (mmol/L)
正常对照组	6	3.94 ± 0.60	13.67 ± 2.75	18.42 ± 3.18	207.49 ± 87.71	32.33 ± 3.89	4.65 ± 1.03
Sham 组	6	4.73 ± 0.72	14.68 ± 2.38	28.69 ± 4.67	354.63 ± 170.31	35.50 ± 5.24	5.23 ± 1.18
TIS 12 h 组	6	7.43 ± 0.93 ^a	407.28 ± 77.01 ^a	1 249.51 ± 74.43 ^a	682.89 ± 72.25 ^a	72.00 ± 10.35 ^a	12.70 ± 3.28 ^a
TIS 24 h 组	6	25.46 ± 3.66 ^a	660.21 ± 82.12 ^a	2 676.28 ± 249.36 ^a	3 266.39 ± 566.63 ^a	133.50 ± 6.28 ^a	22.33 ± 4.30 ^a
TIS 48 h 组	6	15.63 ± 2.71 ^a	179.64 ± 19.92 ^a	753.64 ± 98.81 ^a	1 132.93 ± 250.02 ^a	105.17 ± 13.11 ^a	17.55 ± 2.91 ^a

注:Sham 为假手术,TIS 为创伤性脓毒症,WBC 为白细胞计数,TNF- α 为肿瘤坏死因子- α ,IL-6 为白细胞介素-6,CRP 为 C-反应蛋白,SCr 为血肌酐,BUN 为血尿素氮;与正常对照组比较,^a $P < 0.05$

表 2 各组大鼠炎症指标和肾功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	WBC ($\times 10^9/L$)	TNF- α (ng/L)	IL-6 (ng/L)	CRP (ng/L)	SCr ($\mu\text{mol/L}$)	BUN (mmol/L)
Sham 组	6	4.77 \pm 0.51	13.67 \pm 2.75	21.33 \pm 7.15	280.83 \pm 93.31	34.83 \pm 3.19	6.23 \pm 1.11
TIS 组	6	25.10 \pm 3.55 ^a	820.59 \pm 105.13 ^a	2 376.28 \pm 211.80 ^a	3 355.76 \pm 439.79 ^a	129.67 \pm 10.52 ^a	21.53 \pm 4.31 ^a
KMO 抑制剂干预组	6	9.87 \pm 2.74 ^b	213.61 \pm 81.47 ^b	986.98 \pm 105.54 ^b	1 149.55 \pm 405.60 ^b	57.67 \pm 12.36 ^b	11.63 \pm 2.60 ^b

注: Sham 为假手术, TIS 为创伤性脓毒症, KMO 为犬尿氨酸-3-单加氧酶, WBC 为白细胞计数, TNF- α 为肿瘤坏死因子- α , IL-6 为白细胞介素-6, CRP 为 C-反应蛋白, SCr 为血肌酐, BUN 为血尿素氮; 与 Sham 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 TIS 组比较, ^b $P < 0.05$

一般状态有所改善, 表现为活动量与进食量增加, 对外界刺激的反应更灵敏。在炎症指标方面, TIS 组大鼠外周血 WBC、TNF- α 、IL-6 及 CRP 水平均较 Sham 组升高 (均 $P < 0.05$); 而 KMO 抑制剂干预组上述指标均较 TIS 组下降 (均 $P < 0.05$), 表明抑制 KMO 可减轻 TIS 大鼠全身炎症反应。在肾功能方面, 与 Sham 组相比, TIS 组大鼠 SCr、BUN 水平升高 (均 $P < 0.05$); 而与 TIS 组相比, KMO 抑制剂干预组 SCr 和 BUN 均降低 (均 $P < 0.05$), 提示抑制 KMO 可改善 TIS 诱导的肾功能损伤。由此可见, 抑制 KMO 改善了 TIS 大鼠的炎症状态和肾功能。

2.4 抑制 KMO 对 TIS 大鼠肾组织病理学改变与细胞凋亡的影响: PAS 染色显示 (图 3), Sham 组肾组织结构正常, 小管上皮细胞形态完整; TIS 组出现明显病理损伤, 表现为刷状缘脱落、上皮细胞扁平坏死、小管扩张及大量炎症细胞浸润; GSK180 干预后损伤显著减轻, 刷状缘修复、小管完整性改善。病理评分结果显示 (表 3), TIS 组病理评分最高, GSK180 干预后评分降低 ($P < 0.05$)。TUNEL 染色结果进一步从细胞凋亡角度验证了上述改变 (图 4), TIS 组肾小管上皮区域凋亡细胞增加, GSK180 干预后凋亡细胞减少; 定量分析显示 (表 3), TIS 组细胞凋亡率高于 Sham 组 ($P < 0.05$), 而 GSK180 干预后细胞凋亡率较 TIS 组下降 ($P < 0.05$)。由此可见, 抑制 KMO 可减轻 TIS 诱导的肾小管损伤、炎症浸润及细胞凋亡, 可能与保护肾小管上皮细胞结构及抑制凋亡有关。

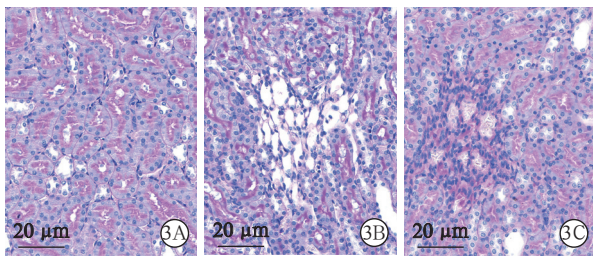


图 3 光镜下观察各组大鼠肾组织病理学改变 假手术 (Sham) 组 (A) 肾组织结构正常, 小管上皮细胞形态完整; 创伤性脓毒症 (TIS) 组 (B) 刷状缘脱落、上皮细胞扁平坏死、小管扩张及大量炎症细胞浸润; 犬尿氨酸-3-单加氧酶 (KMO) 抑制剂 GSK180 干预组 (C) 刷状缘修复、小管完整性改善 高碘酸-雪夫 (PAS) 染色 高倍放大

表 3 各组大鼠肾组织病理评分及细胞凋亡率比较

组别	动物数 (只)	病理评分 [分, $M(Q_1, Q_3)$]	细胞凋亡率 (% , $\bar{x} \pm s$)
Sham 组	6	0 (0, 0)	1.38 \pm 0.93
TIS 组	6	3.0 (3.0, 4.0) ^a	13.98 \pm 3.41 ^a
KMO 抑制剂干预组	6	2.5 (2.0, 3.0) ^b	8.23 \pm 2.18 ^b

注: Sham 为假手术, TIS 为创伤性脓毒症, KMO 为犬尿氨酸-3-单加氧酶; 与 Sham 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 TIS 组比较, ^b $P < 0.05$

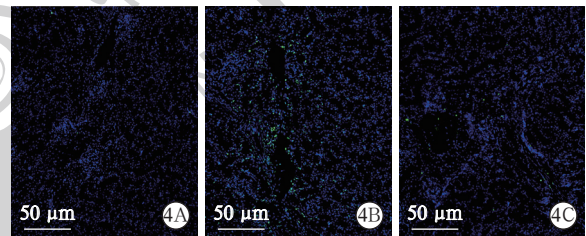


图 4 荧光显微镜下观察各组大鼠肾组织细胞凋亡情况 假手术 (Sham) 组 (A) 未见凋亡细胞; 创伤性脓毒症 (TIS) 组 (B) 可见大量凋亡细胞; 犬尿氨酸-3-单加氧酶 (KMO) 抑制剂 GSK180 干预组 (C) 凋亡细胞显著减少 原位末端转移酶标记法 (TUNEL) 染色 中倍放大

2.5 抑制 KMO 对 TIS 大鼠肾小管线粒体超微结构与功能的影响: 透射电镜下观察结果显示 (图 5), Sham 组肾小管线粒体结构正常, 嵴清晰紧密; TIS 组呈现明显超微结构损伤, 包括线粒体肿胀、嵴断裂、基质空泡化及外膜破裂; GSK180 干预后, 上述病变显著改善, 线粒体肿胀减轻, 嵴结构恢复, 整体形态趋于完整。流式细胞仪检测结果显示 (表 4), TIS 组肾组织细胞内 ROS 水平升高, 线粒体膜电位下降 (均 $P < 0.05$); GSK180 处理可降低 ROS 水平并恢复膜电位 (均 $P < 0.05$)。由此可见, 抑制 KMO 可缓解 TIS 所致的线粒体氧化应激和功能紊乱。

2.6 抑制 KMO 对 TIS 大鼠肾小管上皮细胞线粒体动力学的影响 (图 6~7): Western blotting 检测结果显示, 与 Sham 组相比, TIS 组线粒体分裂相关蛋白 DRP1 Ser616 位点的磷酸化水平升高, 而线粒体融合相关蛋白 MFN2、OPA1 表达均下降 (均 $P < 0.05$); GSK180 可抑制 DRP1 Ser616 位点磷酸化, 促进 MFN2、OPA1 表达上调 (均 $P < 0.05$)。由此可见, 抑制 KMO 可通过调控 DRP1 介导的分裂与 MFN2/OPA1 介导的融合过程, 改善线粒体动力学平衡。

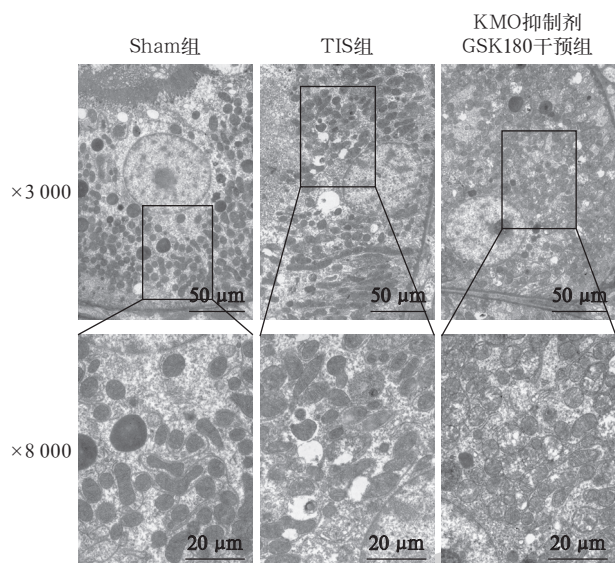
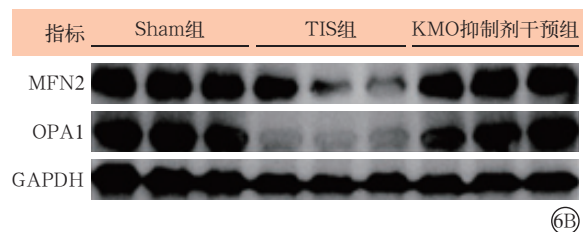
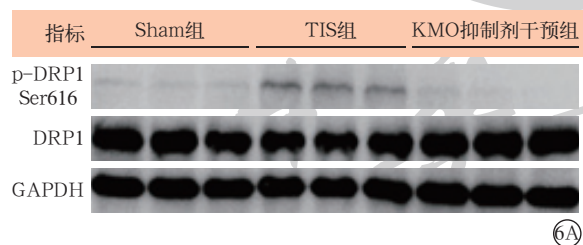


图 5 透射电镜下观察各组大鼠肾小管线粒体超微结构改变 假手术 (Sham) 组肾小管线粒体结构正常, 嵴清晰紧密; 创伤性脓毒症 (TIS) 组可见线粒体肿胀、嵴断裂、基质空泡化和外膜破裂; 犬尿氨酸-3-单加氧酶 (KMO) 抑制剂 GSK180 干预组线粒体肿胀减轻, 嵴结构恢复, 整体形态趋于完整 醋酸铀酰和枸橼酸铅双染

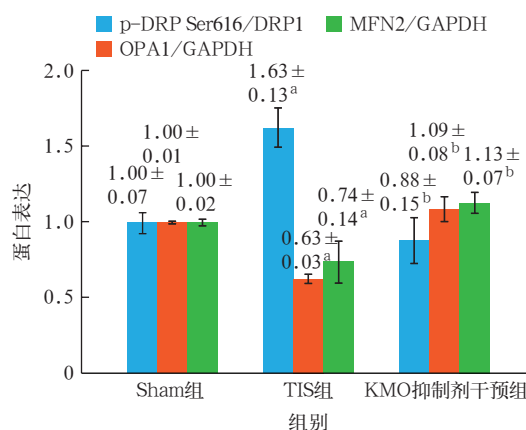
组别	动物数 (只)	ROS (FITC 荧光强度)	线粒体膜电位 (绿色荧光强度)
Sham 组	6	100.00 ± 21.58	100.00 ± 10.91
TIS 组	6	448.01 ± 47.90 ^a	147.60 ± 25.78 ^a
KMO 抑制剂干预组	6	241.11 ± 39.83 ^b	113.81 ± 16.48 ^b

注: Sham 为假手术, TIS 为创伤性脓毒症, KMO 为犬尿氨酸-3-单加氧酶, ROS 为活性氧, FITC 为异硫氰酸荧光素; 与 Sham 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 TIS 组比较, ^b $P < 0.05$; 荧光强度与 Sham 组归一化处理



注: Western blotting 为蛋白质免疫印迹试验, Sham 为假手术, TIS 为创伤性脓毒症, KMO 为犬尿氨酸-3-单加氧酶, p-DRP1 Ser616 为磷酸化动力相关蛋白 1 Ser616 位点, DRP1 为动力相关蛋白 1, GAPDH 为 3-磷酸甘油醛脱氢酶, MFN2 为线粒体融合蛋白 2, OPA1 为视神经萎缩蛋白 1

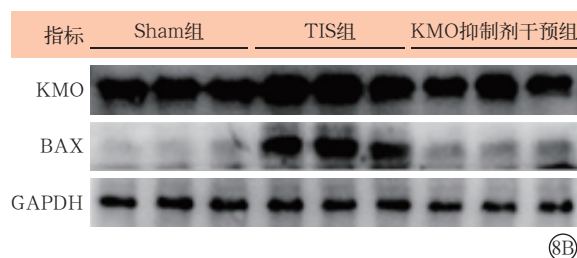
图 6 Western blotting 检测各组大鼠肾组织线粒体分裂相关蛋白 (A) 及融合相关蛋白 (B) 表达



注: Sham 为假手术, TIS 为创伤性脓毒症, KMO 为犬尿氨酸-3-单加氧酶, p-DRP1 Ser616 为磷酸化动力相关蛋白 1 Ser616 位点, DRP1 为动力相关蛋白 1, GAPDH 为 3-磷酸甘油醛脱氢酶, MFN2 为线粒体融合蛋白 2, OPA1 为视神经萎缩蛋白 1; 与 Sham 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 TIS 组比较, ^b $P < 0.05$

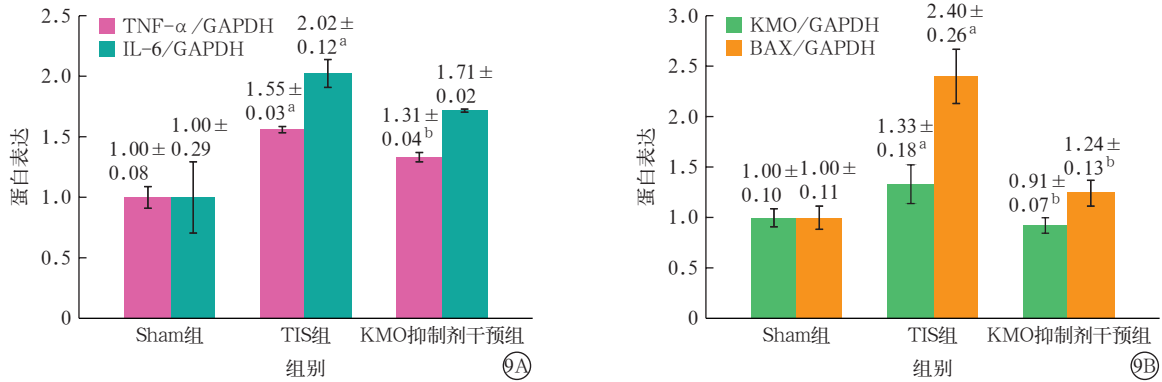
图 7 各组大鼠肾组织线粒体分裂及融合相关蛋白表达比较

2.7 抑制 KMO 对 TIS 大鼠肾脏炎症与凋亡相关蛋白表达的影响 (图 8 ~ 9): Western blotting 检测结果显示, 在炎症因子蛋白表达方面, 与 Sham 组比较, TIS 组大鼠肾组织 TNF- α 、IL-6 蛋白表达均上调 (均 $P < 0.05$); 与 TIS 组相比, 给予 GSK180 干预后, 肾组织 TNF- α 、IL-6 蛋白表达不同程度下调。在凋亡相关蛋白表达方面, 与 Sham 组比较, TIS 组大鼠肾组织促凋亡蛋白 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2-associated X protein, BAX) 表达伴随 KMO 表达上调 (均 $P < 0.05$); 与 TIS 组相比, 给予 GSK180 干预后, 肾组织 KMO、BAX 蛋白表达均下调 (均 $P < 0.05$)。由此可见, 抑制 KMO 可有效缓解 TIS 诱导的肾脏线粒体损伤、炎症反应及细胞凋亡。



注: Western blotting 为蛋白质免疫印迹试验, Sham 为假手术, TIS 为创伤性脓毒症, KMO 为犬尿氨酸-3-单加氧酶, TNF- α 为肿瘤坏死因子- α , IL-6 为白细胞介素-6, BAX 为促凋亡蛋白 Bcl-2 相关 X 蛋白, GAPDH 为 3-磷酸甘油醛脱氢酶

图 8 Western blotting 检测各组大鼠肾组织炎症因子 (A) 及凋亡相关蛋白 (B) 表达



注: Sham 为假手术, TIS 为创伤性脓毒症, KMO 为犬尿氨酸-3-单加氧酶, TNF-α 为肿瘤坏死因子-α, IL-6 为白细胞介素-6, BAX 为促凋亡蛋白 Bel-2 相关 X 蛋白, GAPDH 为 3-磷酸甘油醛脱氢酶; 与 Sham 组比较, ^a*P*<0.05; 与 TIS 组比较, ^b*P*<0.05

图 9 各组大鼠肾组织炎症因子(A)及凋亡相关蛋白(B)表达比较

3 讨论

本研究通过建立 TIS 相关 AKI 大鼠模型,探讨了 KMO 在 TIS 相关 AKI 发病过程中的潜在作用。结果显示, TIS 相关 AKI 大鼠肾组织中 KMO 表达上调,并与线粒体动力学紊乱、氧化应激加剧、炎症反应增强、细胞凋亡增加等病理现象相关联。使用特异性 KMO 抑制剂 GSK180 干预后,上述病理变化得到明显改善,同时肾功能指标恢复,提示 KMO 可能参与 TIS 相关 AKI 的疾病进程,并具有作为治疗靶点的研究价值。

本研究中采用的 TIS 动物模型具有较好的可靠性,该模型在本课题组前期研究中已得到验证,表现出死亡率波动范围小、模型成功率稳定等特点^[12],这为后续的机制探索提供了基础。KMO 是犬尿氨酸通路中的关键限速酶,主要位于线粒体外膜^[16],负责催化 L-犬尿氨酸向 3-羟基犬尿氨酸转化^[17]。以往研究大多集中于 KMO 在神经退行性疾病中的作用,其主要通过调节犬尿氨酸代谢产物影响氧化应激和线粒体功能^[18-19]。本研究显示,在 TIS 相关 AKI 模型中, KMO 表达上调与 DRP1 Ser616 位点磷酸化增强存在伴随现象,同时伴随着 MFN2 和 OPA1 表达下调,这些变化可能与线粒体过度分裂、结构破坏和功能受损有关。上述结果拓展了对 KMO 功能的认识,提示其可能通过影响线粒体动力学参与脓毒症相关器官损伤的病理过程。

本研究中观察到 KMO 表达变化与 DRP1 磷酸化水平存在相关性,但其具体调控机制尚待阐明。线粒体作为细胞能量代谢和凋亡调控的中心,其动力学平衡对于维持细胞稳态至关重要。DRP1 是线粒体分裂的关键调控蛋白,其活性受到 Ser616 与 Ser637 位点磷酸化的精细调控^[20-21]。本研究显示,

KMO 上调与 DRP1 Ser616 位点磷酸化增强相关。

这种关联可能存在多种解释: KMO 可能通过影响线粒体外膜微环境间接调节 DRP1 活性,其催化产生的代谢产物也可能通过调节相关激酶或磷酸酶的活性发挥作用。需要指出的是,目前的研究证据主要来自蛋白表达水平的检测,尚缺乏 KMO 与 DRP1 直接相互作用的证据,这是本研究的一个局限性。线粒体过度分裂进一步导致线粒体膜电位降低、ROS 产生增加,并通过促进 BAX 嵌入线粒体外膜,激活细胞凋亡通路^[22-23]。这些发现为理解 TIS 相关 AKI 的发病机制提供了新的视角。

GSK180 作为一种高选择性 KMO 抑制剂,在本研究中显示出良好的肾脏保护作用,与国外研究结果一致^[9]。研究表明, GSK180 干预不仅能够降低 KMO 活性,还能部分逆转 DRP1 磷酸化异常,恢复 MFN2 和 OPA1 表达,改善线粒体超微结构,减少 ROS 产生,最终抑制肾小管上皮细胞凋亡。这些发现提示,抑制 KMO 可能通过多途径减轻 TIS 相关 AKI 的肾脏损伤:一方面,通过调节线粒体动力学平衡,维持线粒体功能完整性;另一方面,通过减少氧化应激和炎症反应,阻断细胞凋亡通路。该结果与既往研究中 KMO 抑制剂在神经系统疾病模型中所表现的细胞保护效应一致^[24-25],进一步支持了 KMO 作为干预靶点的潜在价值。

尽管本研究通过动物模型阐明了 KMO 在 TIS 相关 AKI 中的重要作用,但仍存在若干局限性。首先,本实验主要基于 SD 大鼠,尚需在人源化类器官模型或临床脓症患者样本中进一步验证 KMO 及其下游代谢产物的表达变化和与肾损伤的相关性。其次, KMO 通路的其他代谢产物可能也参与调控线粒体功能和炎症反应,未来研究应采用多组学方法

全面揭示 KMO 信号网络。最后,虽然本研究中观察到 KMO 表达与 DRP1 磷酸化水平的相关性,但两者之间的直接调控关系尚未得到证实,后续研究需要通过构建 KMO 基因敲除模型、开展共定位实验等方法进一步验证其在 TIS 相关 AKI 中的特异性作用机制。

综上所述, KMO 可能通过影响 DRP1 磷酸化参与 TIS 诱导 AKI 的过程。KMO 抑制剂 GSK180 在动物模型中显示出改善线粒体损伤与细胞凋亡的作用,表明靶向 KMO 可能为 TIS 相关 AKI 的防治提供了新的研究方向。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

作者贡献声明 钱东旭: 酝酿和设计实验、实施研究、采集数据、分析/解释数据、起草文章、统计分析; 孙百胜: 采集数据、对文章的知识性内容作批评性审阅、指导; 戴智: 分析/解释数据、对文章的知识性内容作批评性审阅、统计分析; 韩子伟: 分析/解释数据、指导; 毛智: 分析/解释数据、对文章的知识性内容作批评性审阅; 周飞虎: 酝酿和设计实验、对文章的知识性内容作批评性审阅、获取研究经费、指导

参考文献

- [1] Dickmann P, Claus RA, Bauer M. Sepsis after trauma—evolving paradigms in stress biology and host response failure[J]. *Burns Trauma*, 2025, 13: tkaf014. DOI: 10.1093/burnst/tkaf014.
- [2] Papareddy P, Selle M, Partouche N, et al. Identifying biomarkers deciphering sepsis from trauma—induced sterile inflammation and trauma—induced sepsis[J]. *Front Immunol*, 2024, 14: 1310271. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1310271.
- [3] Becker N, Bülow JM, Franz N, et al. Assessment of early indicators for sepsis development in multiple trauma patients: the Sepsis as Trauma Outcome Prediction (STOP) score[J]. *Shock*, 2025, 64(2): 187–197. DOI: 10.1097/SHK.0000000000002626.
- [4] Qi P, Huang MJ, Wu W, et al. Exploration of potential biomarkers and therapeutic targets for trauma—related acute kidney injury[J]. *Chin J Traumatol*, 2024, 27(2): 97–106. DOI: 10.1016/j.cjte.2024.01.002.
- [5] Udeze CO, Nwobodo MU, Afolabi OF, et al. Incidence, risk factors and outcomes of AKI among trauma patients in a tertiary hospital in south-east, Nigeria[J]. *BMC Nephrol*, 2025, 26(1): 135. DOI: 10.1186/s12882-025-04062-x.
- [6] Li JY, Shi XX, Xu JT, et al. Aldehyde Dehydrogenase 2 lactylation aggravates mitochondrial dysfunction by disrupting PHB2 mediated mitophagy in acute kidney injury[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2025, 12(8): e2411943. DOI: 10.1002/advs.202411943.
- [7] Zhang J, Wei Q, Wu SK, et al. Inhibition of Drp1—mediated mitochondrial fission improves contrast—induced acute kidney injury by targeting the mROS—TXNIP—NLRP3 inflammasome axis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 133: 112001. DOI: 10.1016/j.intimp.2024.112001.
- [8] Wang Y, Bai Y, Cai Y, et al. Circular RNA SCM1 suppresses KMO expression to inhibit mitophagy and promote functional recovery following stroke[J]. *Theranostics*, 2024, 14(19): 7292–7308. DOI: 10.7150/thno.99323.
- [9] Mole DJ, Webster SP, Uings I, et al. Kynurenine—3—monoxygenase inhibition prevents multiple organ failure in rodent models of acute pancreatitis[J]. *Nat Med*, 2016, 22(2): 202–209. DOI: 10.1038/nm.4020.
- [10] Parrott JM, O'Connor JC. Kynurenine 3—monoxygenase: an influential mediator of neuropathology[J]. *Front Psychiatry*, 2015, 6: 116. DOI: 10.3389/fpsy.2015.00116.
- [11] Zheng XZ, Zhang AL, Binnie M, et al. Kynurenine 3—monoxygenase is a critical regulator of renal ischemia—reperfusion injury[J]. *Exp Mol Med*, 2019, 51(2): 1–14. DOI: 10.1038/s12276-019-0210-x.
- [12] Sun BS, Qian DX, Zhang C, et al. Dynamic multi—organ dysfunction after trauma with secondary sepsis in rats: a 6–72 hours temporal map validated by rodent—specific MODS scoring[J/OL]. *Shock*, (2025-09-23) [2025-09-30]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40987007/>. DOI: 10.1097/SHK.0000000000002704. [published online ahead of print].
- [13] Zhang LH, Pan W, Sun J, et al. miR-6722-3p improves sepsis—induced acute kidney injury by targeting CHI3L1[J]. *Tissue Cell*, 2025, 96: 103002. DOI: 10.1016/j.tice.2025.103002.
- [14] Li JM, Wang LY, Wang B, et al. NOX4 is a potential therapeutic target in septic acute kidney injury by inhibiting mitochondrial dysfunction and inflammation[J]. *Theranostics*, 2023, 13(9): 2863–2878. DOI: 10.7150/thno.81240.
- [15] Çakır M, Aydın A, Tekin S. Protective effect of fatty acid amide hydrolase inhibitor URB597 and monoacylglycerol lipase inhibitor KML29 on renal ischemia—reperfusion injury via toll—like receptor 4/nuclear factor—kappa B pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 114: 109586. DOI: 10.1016/j.intimp.2022.109586.
- [16] Maddison DC, Alfonso—Núñez M, Swaih AM, et al. A novel role for kynurenine 3—monoxygenase in mitochondrial dynamics[J]. *PLoS Genet*, 2020, 16(11): e1009129. DOI: 10.1371/journal.pgen.1009129.
- [17] Lin YX, Wang LY, Meng SN, et al. 3—Hydroxykynurenine increase in kynurenine pathway driven bisphenol F induced anxiety— and depression—like behaviors[J]. *Sci Total Environ*, 2025, 995: 180073. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2025.180073.
- [18] Wang QX, Zhang M, Ding Y, et al. Activation of NAD(P)H oxidase by tryptophan—derived 3—hydroxykynurenine accelerates endothelial apoptosis and dysfunction *in vivo*[J]. *Circ Res*, 2014, 114(3): 480–492. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.114.302113.
- [19] Mor A, Tankiewicz—Kwedlo A, Ciwun M, et al. Kynurenines as a novel target for the treatment of inflammatory disorders[J]. *Cells*, 2024, 13(15): 1259. DOI: 10.3390/cells13151259.
- [20] Song ZX, Xia Y, Shi L, et al. Inhibition of Drp1—Fis1 interaction alleviates aberrant mitochondrial fragmentation and acute kidney injury[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2024, 29(1): 31. DOI: 10.1186/s11658-024-00553-1.
- [21] 张子佳, 杜斌, 吴逊尧, 等. 线粒体动力学失衡与新型冠状病毒感染相关急性呼吸窘迫综合征的研究进展[J]. *中华危重病急救医学*, 2025, 37(3): 300–304. DOI: 10.3760/ema.jen121430-20241126-00957.
- [22] Duan CY, Kuang L, Xiang XM, et al. Correction: Drp1 regulates mitochondrial dysfunction and dysregulated metabolism in ischemic injury via Clec16a—, BAX—, and GSH— pathways[J]. *Cell Death Dis*, 2025, 16(1): 11. DOI: 10.1038/s41419-024-07314-0. Erratum for: *Cell Death Dis*, 2020, 11(4): 251. DOI: 10.1038/s41419-020-2461-9.
- [23] Milani M, Byrne DP, Greaves G, et al. DRP-1 is required for BH3 mimetic—mediated mitochondrial fragmentation and apoptosis[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(1): e2552. DOI: 10.1038/cddis.2016.485.
- [24] Phillips RS, Anderson AD, Gentry HG, et al. Substrate and inhibitor specificity of kynurenine monoxygenase from *Cytophaga hutchinsonii*[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, 27(8): 1705–1708. DOI: 10.1016/j.bmcl.2017.02.080.
- [25] Garrison AM, Parrott JM, Tuñon A, et al. Kynurenine pathway metabolic balance influences microglia activity: targeting kynurenine monoxygenase to dampen neuroinflammation[J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2018, 94: 1–10. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2018.04.019.

(收稿日期: 2025-10-11)
(本文编辑: 孙茜)