

网络出版时间: 2024-07-19 15:16:43 网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20240717.1522.011>

汉黄芩素对脂多糖诱导的急性肾损伤小鼠的保护作用

王锦妮, 汪靓婧, 王美茜, 吴永贵, 齐向明

摘要 目的 探讨汉黄芩素(WOG)对脂多糖(LPS)诱导的急性肾损伤的保护作用。方法 用LPS试剂诱导C57BL/6J小鼠构建脓毒症致急性肾损伤模型。以未经处理的C57BL/6小鼠作为常规对照组。24只小鼠被随机分配到四个组别:常规对照(NC)组、WOG(WOG 12.5 mg/kg)组、LPS(LPS 10 mg/kg)组以及LPS+WOG(LPS 10 mg/kg+WOG 12.5 mg/kg)组。检测小鼠血肌酐(CRE)和尿素氮(BUN)水平。聚合酶链式反应(PCR)检测小鼠肾损伤分子1(KIM-1)和中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)的表达情况。苏木精-伊红(HE)染色和糖原(PAS)染色观察肾脏病理损伤程度。免疫组化检测肾组织的炎症标志物白细胞介素(IL-1 β 、IL-6)和肿瘤坏死因子(TNF- α)的表达程度。Western blot法检测肾脏组织核因子 κ B(NF- κ B)信号通路亚基P65和PP65蛋白表达变化的情况。结果 相较于NC组,LPS组CRE和BUN上升($F_{CRE}=60.90, P<0.001; F_{BUN}=82.13, P<0.001$);相较于LPS组,LPS+WOG组CRE和BUN降低($P<0.001$)。PCR检测结果显示,相对于NC组,LPS处理的小鼠其肾脏内的KIM-1和NGAL mRNA表达增加($F_{KIM-1}=146.3, F_{NGAL}=161.2$ 均 $P<0.001$),而在LPS+WOG组中,KIM-1和NGAL mRNA表达下降(均 $P<0.01$)。肾脏组织病理学检查显示,与NC组相比,LPS组小鼠肾组织肾小管扩张明显、炎症细胞浸润;与LPS组相比,LPS+WOG组肾小管扩张数量减少和炎症细胞浸润减少($F_{HE}=721.4, F_{PAS}=518.9, P<0.001$)。免疫组化染色检测结果显示,相较于NC组,LPS处理的小鼠中IL-1 β 、IL-6及TNF- α 的表达量上升($F_{IL-1\beta}=114.6, F_{IL-6}=108.9, F_{TNF-\alpha}=251.6$ 均 $P<0.001$);而对比LPS组,LPS+WOG组中的这些指标则有所减少(均 $P<0.01$)。使用Western blot方法进一步研究表明,相较于NC组,LPS处理的小鼠其NF- κ B信号途径已被激活并产生高磷酸化状态($F_{PP65}=13.02, P<0.01$),然而对比LPS组时,LPS+WOG组的该途径却表现出相反的效果,即活性减弱且磷酸化程度降低($P<0.01$)。结论 WOG能有效地阻断LPS引发的急性肾损伤模型小鼠的NF- κ B信号途径,从而削弱由LPS引起的急性肾损伤小鼠肾脏的炎症应答及其组织损害。

关键词 脓毒症;急性肾损伤;汉黄芩素;炎症

2024-04-22 接收

基金项目:安徽省自然科学基金(编号:1908085MH245)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院肾脏内科,合肥 230022

作者简介:王锦妮,女,硕士研究生;

齐向明,男,教授,主任医师,博士生导师,责任作者,E-mail: qxm119@126.com

中图分类号 R 285.5

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2024)08-1411-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.08.018

脓毒症(sepsis)是一种全身性炎症反应综合征,常常表现为过度的炎症反应、严重的组织损伤和多器官受累,脓毒症也是导致患者的肾脏遭受急剧损害并发生急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)的主要原因之一^[1]。目前有研究^[2]表明,脓毒症致AKI的机制与多个因素相关,主要包括细菌毒素诱发的炎症反应、微循环功能障碍和各种氧化应激反应引起的一系列功能紊乱等,炎症反应在其中占有重要地位。脓毒症致AKI因其高病死率和高经济负担的特征,现已成为一个医学界的研究热点。

汉黄芩素(wogonin, WOG)是一种黄酮类的化合物,具备多样的生物功能与效果。课题组前期研究^[3]表明WOG能够通过阻断RIPK1调节下的细胞程序死亡来缓解顺铂引发的急性肾损伤。同时还发现它能够通过降低糖尿病肾病的核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)和转化生长因子- β 1/Smad同源物3(transforming growth factor- β 1/small mother against decapentaplegic 3, TGF- β 1/Smad3)途径来减轻肾脏发炎及纤维化^[4]。但WOG对脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的AKI保护及其机制未有研究报道。该研究旨在探讨WOG对LPS诱导的AKI小鼠肾脏炎症的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 本实验使用LPS诱导雄性C57BL/6J(约6~8周龄)小鼠构建AKI小鼠模型。雄性C57BL/6J小鼠购自常州卡文斯实验动物有限公司,许可证号:SCXK(苏)2021-0013,在安徽医科大学动物中心SPF级动物房饲养。实验小鼠在标准条件下的笼子中进行饲养,恒温恒湿、光暗周期为12 h/12 h的房间中,自由饮水进食。小鼠随机分成常规对照(NC)组、WOG组(WOG 12.5 mg/kg)、LPS组(LPS 10 mg/kg)、LPS+WOG组(LPS 10 mg/kg+WOG 12.5 mg/kg)。予以LPS+WOG组小鼠腹腔

注射相应量的 WOG 连续 3 d 24 h 后再予以 LPS + WOG 组和 LPS 组小鼠腹腔注射 10 mg/kg 的 LPS。

1.2 试剂 WOG(标准品)购自大连美仑生物科技有限公司; LPS 购自上海西格玛奥德里奇(Sigma-Aldrich) 科技有限公司; 抗 β -actin、抗白细胞介素(interleukin, IL) -1β 、抗 IL-6 和抗肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、抗 NF- κ B P65 和抗 NF- κ B PP65 的特异性抗体购自沈阳万类生物科技有限公司; 抗肾损伤分子 1(kidney injury molecule 1, KIM-1) 特异性抗体购自北京博奥森(Bioss) 生物技术有限公司; 抗中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutropil gelatinase-associated lipocalin, NGAL) 特异性抗体购自上海 Abcam 科技有限公司; 血肌酐和尿素氮检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所; 山羊抗鼠 IgG 和 HRP 山羊抗兔 IgG 购自武汉三鹰生物技术有限公司。

1.3 主要仪器 凝胶成像系统(型号: Amersham Imager 600RGB) 购自美国 G. E. 医疗公司; 组织脱水机(型号: ASP300)、石蜡包埋机(型号: EG1150H + C) 和石蜡切片机(型号: CM3050S) 购自德国 Leica 公司; 多功能酶标仪(型号: enspire) 购自美国 PE 公司; 电泳仪和湿转仪购自美国伯乐公司; 高速冷冻微量离心机(型号: Centrifuge 5427R) 购自德国 Eppendorf 公司。

1.4 实验方法

1.4.1 一般生化指标的检测 小鼠腹腔注射 LPS 24 h 后, 吸入 5% 异氟烷麻醉小鼠, 剪刀剪去小鼠眼球周围的胡子后用镊子摘取小鼠眼球, 同时适量按压小鼠心脏, 让血液垂直低落于 EP 试管中, 减少贴壁可能以免影响后续检测结果。将收集好的小鼠血液室温静置, 见血清析出放入离心机离心 30 min, 转速为 3 000 r/min, 将血清样本按照说明书检测血清肌酐(creatinine, CRE) 和尿素氮(blood urea nitrogen, BUN) 水平。

1.4.2 肾脏组织病理形态学观察 取出小鼠肾脏组织, 用纱布吸干组织表面多余水分, 去除肾脏被膜, 用多聚甲醛固定, 用脱水机脱水后进行包埋。将组织块切成 3.5 μ m 连续厚切片, 烤干后进行脱蜡, 最后按照说明书进行苏木精-伊红(hematoxylin and eosin, HE) 染色和糖原染色(periodic acid-schiff, PAS) 染色。

1.4.3 免疫组化染色 石蜡切片于烘箱中 65 $^{\circ}$ C 加热至蜡融化脱蜡, 滴加阻断剂覆盖所有的肾组织部分, 37 $^{\circ}$ C、30 min。用柠檬酸盐加热修复抗原, 冷却

后滴加 10% 山羊血清, 37 $^{\circ}$ C 封闭 1 h。分别滴加配制浓度为 1 : 200 的抗 IL- 1β 、IL-6 和 TNF- α 抗体, 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 用 PBS 溶液洗涤 3 次, 每次 5 min, 加入酶标羊抗小鼠/兔 IgG 聚合物, 37 $^{\circ}$ C、35 min。PBS 溶液冲洗, DAB 染色。使用 Image J 分析图片, 计算阳性面积百分比。

1.4.4 Western blot 实验 取适量的肾组织于试管中, 加入裂解液用研磨机提取组织蛋白, 用 BCA 蛋白定量分析。蛋白进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE) 电泳分离蛋白, 将其转移至硝酸纤维素(NC) 膜上。配制封闭液, 室温封闭 45 min 后, 将膜分别放入抗 β -actin(1 : 5 000)、抗 NF- κ B P65(1 : 1 000)、抗 NF- κ B PP65(1 : 1 000) 中, 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。TBST 液体洗膜 3 次, 每次 10 min。加入 HRP 标记的山羊抗兔/小鼠 IgG 二抗(1 : 5 000), 在室温下孵育 1 h。使用超敏 ECL 发光试剂盒, 化学发光系统曝光条带。使用 Image J 软件对条带进行分析。

1.4.5 Real-time PCR 实验 用 RNA 快速提取试剂盒对肾组织提取总 RNA。通过 NanoDrop 2000 分光光度仪测量了 RNA 的浓度和纯度。用逆转录试剂盒将 RNA 逆转录成 cDNA 并进行扩增检测 KIM-1、NGAL、 β -actin 的 mRNA 水平。应用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法来分析和测定检查结果。引物序列见表 1。

表 1 PCR 目的基因引物序列

引物名称	引物序列(5' - 3')
KIM-1	F: CAGGGAAGCCGCAGAAAA
	R: GAGACACGGAAGGCAACCAC
NGAL	F: GCAGGTGTACCTTGTGGG
	R: CTCTTGTAGCTCATAGATGCTGC
β -actin	F: AGTGTGACGTTGACATCCGT
	R: TGCTAGGACCCAGAGCACTA

1.5 统计学处理 利用 GraphPad Prism 8.0 对数据进行统计分析, 正态分布资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组均数间比较采用单因素方差分析, 所有数据来自 3 次独立重复实验。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 WOG 对脓毒症 AKI 小鼠一般指标的影响 检测小鼠 BUN 和 CRE 并进行组间比较, 与 NC 组相比, LPS 组小鼠 BUN 和 CRE 水平升高, 而 LPS + WOG 组小鼠的 BUN 和 CRE 的水平呈现下降趋势

($F_{\text{CRE}} = 60.90$, $F_{\text{BUN}} = 82.13$, $P < 0.001$)。见图 1。

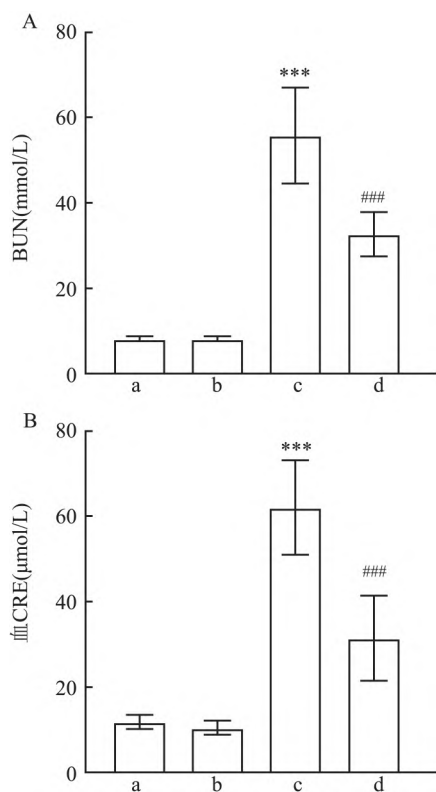


图 1 各组小鼠一般指标的情况

A: 各组小鼠血 BUN; B: 各组小鼠血清 CRE; a: NC 组; b: WOG 组; c: LPS 组; d: LPS + WOG 组; 与 NC 组比较: *** $P < 0.001$; 与 LPS 组比较: ### $P < 0.001$

2.2 WOG 对脓毒症 AKI 小鼠肾组织损伤的影响

Real-time PCR 检测显示,与 NC 组相比,WOG 组肾脏组织中肾损伤分子 *KIM-1* 和 *NGAL* mRNA 表达差异无统计学意义,而 LPS 组中 *KIM-1* 和 *NGAL* mRNA 的表达均升高 ($F_{\text{KIM-1}} = 146.3$, $F_{\text{NGAL}} = 161.2$, $P < 0.001$)。与 LPS 组相比,LPS + WOG 组 *KIM-1* 和 *NGAL* 的 mRNA 表达下降(均 $P < 0.01$)。结果表明 LPS 小鼠肾脏组织 *KIM-1* 和 *NGAL* mRNA 表达增多,WOG 可以减轻 LPS 小鼠肾脏组织 *KIM-1* 和 *NGAL* mRNA 表达。见图 2。

2.3 WOG 对脓毒症 AKI 小鼠肾小管病理结构的影响

HE 染色和 PAS 染色结果显示,NC 组和 WOG 组小鼠的肾组织结构正常,未见肾小管的扩张、肿胀和坏死,肾间质未见明显炎性细胞浸润,而 LPS 组小鼠的肾小管出现明显扩张,上皮细胞脱落和空泡状变性,并有炎症细胞的浸润。与 LPS 组相比,LPS + WOG 组小鼠肾小管扩张、肿胀和坏死得到明显改善和炎症细胞浸润减少 ($F_{\text{HE}} = 721.4$, $F_{\text{PAS}} =$

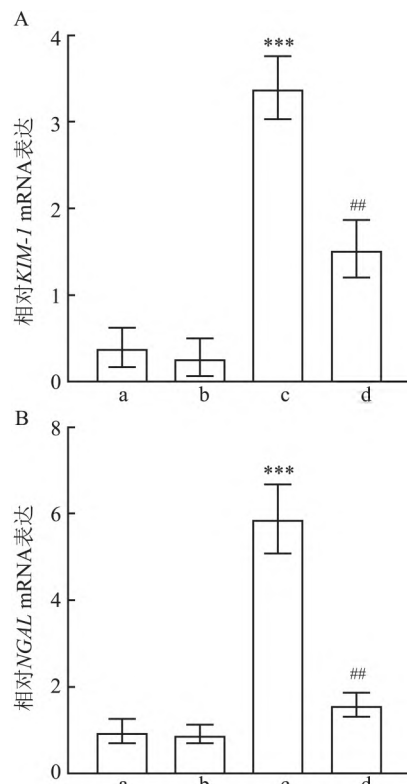


图 2 Real-time PCR 法检测 WOG 对 LPS 小鼠肾脏组织 *KIM-1* 和 *NGAL* 表达的影响

A: Real-time PCR 法检测 WOG 对 LPS 小鼠肾脏组织中 *KIM-1* 的表达; B: Real-time PCR 法检测 WOG 对 LPS 小鼠肾脏组织中 *NGAL* 的表达; a: NC 组; b: WOG 组; c: LPS 组; d: LPS + WOG 组; 与 NC 组比较: *** $P < 0.001$; 与 LPS 组比较: ## $P < 0.01$

518.9, $P < 0.001$)。见图 3。

2.4 WOG 对脓毒症 AKI 小鼠肾脏组织中炎症因子的影响 免疫组化法的检测显示,与 NC 组相比,WOG 组肾脏组织中 *IL-1 β* 、*IL-6* 和 *TNF- α* 表达无统计学意义,而 LPS 组中的表达均升高 ($F_{\text{IL-1}\beta} = 114.6$, $F_{\text{IL-6}} = 108.9$, $F_{\text{TNF-}\alpha} = 251.6$, $P < 0.001$)。与 LPS 组相比,LPS + WOG 组 *IL-1 β* 、*IL-6* 和 *TNF- α* 的表达下降(均 $P < 0.01$)。结果表明 LPS 小鼠肾脏组织炎症反应增加,WOG 可以减轻其炎症反应。见图 4。

2.5 WOG 对脓毒症 AKI 小鼠肾组织 NF- κ B 通路的影响

Western blot 检测小鼠肾组织 NF- κ B P65 和 PP65 的蛋白表达,相较于 NC 组,LPS 组的 NF- κ B P65 未出现显著变化,而 NF- κ B PP65 表达升高 ($F_{\text{PP65}} = 13.02$, $P < 0.01$)。并通过 WOG 得到缓解 ($P < 0.01$)。结果表明 LPS 组小鼠肾脏 NF- κ B 通路激活增加,WOG 可以抑制 LPS 组小鼠肾脏 NF- κ B 通路的激活。见图 5。

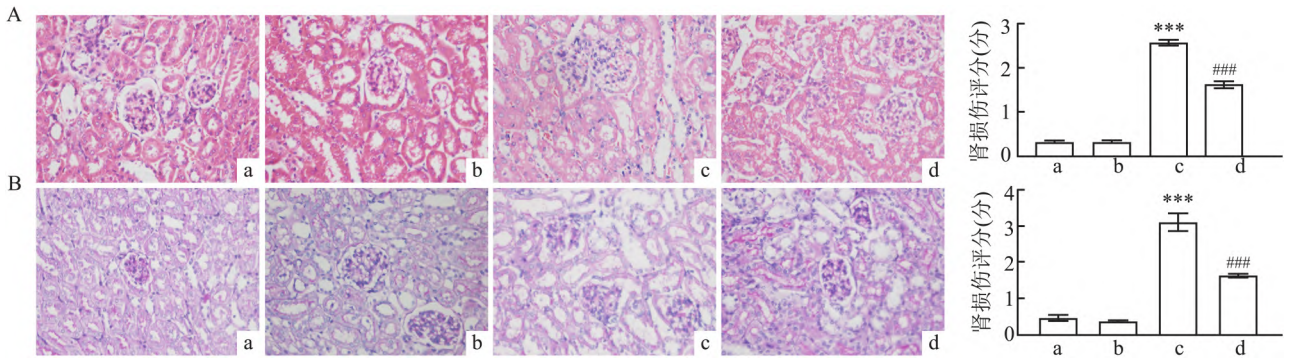


图3 WOG对LPS小鼠肾脏组织病理改变的影响 ×400

A: HE染色各组肾脏病理损伤图片观察及其直方图分析; B: PAS染色观察WOG对LPS小鼠肾脏组织糖原沉积的影响及其直方图分析; a: NC组; b: WOG组; c: LPS组; d: LPS+WOG组; 与NC组比较: *** $P < 0.001$; 与LPS组比较: ### $P < 0.001$

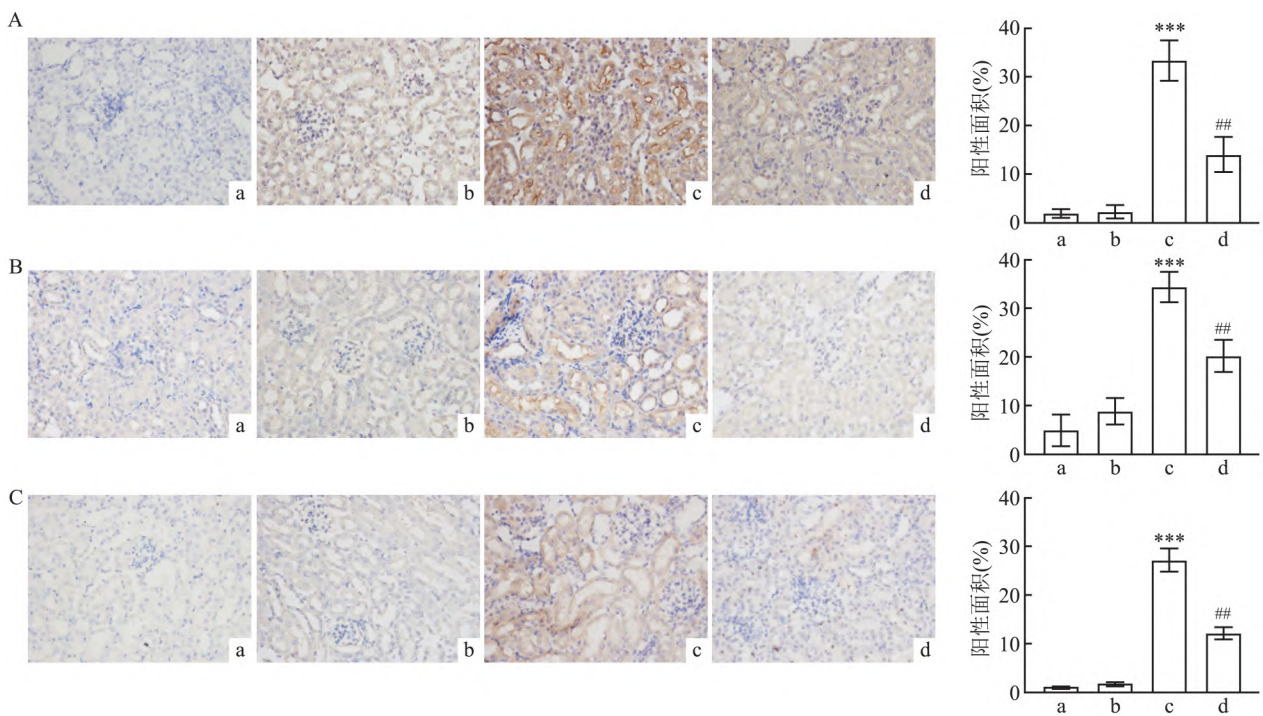


图4 免疫组化检测WOG对LPS小鼠肾脏组织IL-1β、IL-6和TNF-α表达的影响 ×400

A: IL-1β; B: IL-6; C: TNF-α; a: NC组; b: WOG组; c: LPS组; d: LPS+WOG组; 与NC组比较: *** $P < 0.001$; 与LPS组比较: ## $P < 0.01$

3 讨论

脓毒症AKI是一种多因素综合征,通常伴有BUN、CRE的快速进展、水电解质和酸碱平衡紊乱和肾脏血流动力学的改变。目前脓毒症性AKI的治疗主要包括控制原发感染、改善肾脏灌注以及肾脏替代治疗等方法^[5]。WOG提取自黄芩及部分其他植物,在抗氧化、抗炎、抗肿瘤等方面具备显著的疗效^[6]。有研究^[3,7]表明,WOG可以通过抑制RIPK1调控的细胞程序性坏死改善顺铂诱导的AKI和抑制NF-κB和TGF-β1/Smad3信号通路来改善糖

尿病肾病中的肾脏的纤维化和炎症反应,这些研究提示WOG也有可能脓毒症致AKI中发挥保护作用。本次实验中,使用腹腔注射LPS建立AKI的动物模型,试剂盒结果显示模型组中LPS可以明显上调小鼠BUN、CRE的水平,切片结果提示肾小管损伤严重,免疫组化检测到促炎因子表达上调,Western blot结果表明有NF-κB信号通路的激活,予以WOG药物干预后,上述结果得到明显缓解,说明WOG可以改善LPS诱导的脓毒症AKI小鼠的肾功能,减轻炎症反应。

研究^[8]表明,LPS诱导的脓毒症AKI会导致肾

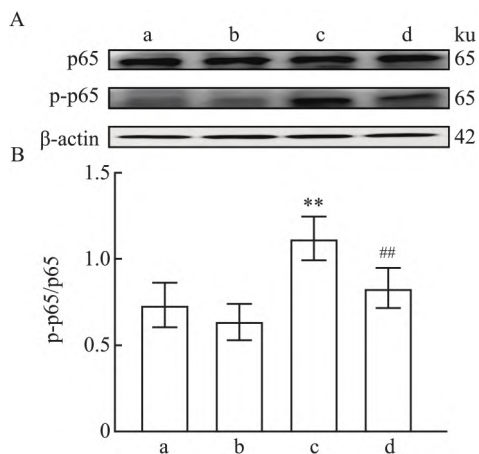


图5 Western blot 检测 WOG 对 LPS 小鼠肾脏组织 NF- κ B 通路表达的影响

A、B: Western blot 检测 WOG 对 LPS 小鼠肾脏组织 NF- κ B 通路 P65 和 P-P65 蛋白水平表达的影响; a: NC 组; b: WOG 组; c: LPS 组; d: LPS + WOG 组; 与 NC 组比较: ** $P < 0.01$; 与 LPS 组比较: ## $P < 0.01$

功能的急剧下降,肾小管和肾小球受到破坏。本次实验中,发现模型组小鼠肾小管损伤严重,特征是肾小管上皮细胞损伤、肾小管管腔扩张、肾小管空泡变性和通透性增加、刷状缘近端丧失和细胞核丧失。同时病理切片中还观察到缺血性损伤、内皮和肾小管上皮细胞坏死和细胞凋亡、肾间质见存在大量炎症细胞的浸润,这表示脓毒症 AKI 小鼠模型检测的肾脏病理变化与肾功能指标结果保持一致。在经过 WOG 的治疗后,肾小管的损伤和炎症浸润均能得到良好改善。

脓毒症 AKI 与炎症反应的激活密切相关,LPS 是免疫系统中重要的激活因素,它能与内部相关受体结合,触发下游免疫应答和活化反应^[9]。一些研究^[10]表明,LPS 可以刺激促炎细胞因子的释放并导致短暂的免疫激活,其特征是 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的上调。本次实验中,促炎因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 在进行免疫组化检测后,发现表达均明显升高,予以 WOG 治疗后可显著抑制促炎因子的表达,提示 WOG 具有良好的抗炎作用。

既往研究^[11]表明,当机体受到 LPS 刺激时,IKK α 被其激酶 IKK 磷酸化,并通过泛素-蛋白酶体途径与 NF- κ B p65 一起降解。激活的 NF- κ B p65 易位到细胞核中,然后充当炎症基因的转录因子,从而激活 NF- κ B 信号通路,诱导下游促炎细胞因子(IL-1 β 、IL-6、TNF- α)、趋化因子、黏附分子(ICAM-1 和 VCAM-1) 和炎症酶基因的表达,放大炎症级联反

应^[12-13]。因此,NF- κ B 也是许多炎症因子的转录因子,在多种炎症反应和疾病中发挥着重要的作用,进而引起细胞中多种炎症有关基因的转录以及炎症介质的释放^[14]。本研究表明 LPS 诱导的脓毒症 AKI 中,LPS 激活 NF- κ B 通路,NF- κ B p65 的磷酸化水平升高,WOG 能有效抑制以上改变,这些结果说明 WOG 可能是通过抑制 NF- κ B 通路来发挥抗炎和保护作用。

综上所述,WOG 改善了 LPS 诱导的脓毒症 AKI 小鼠的肾脏功能及炎性损伤,提示 WOG 可能通过抑制 NF- κ B 通路减轻炎症反应而对脓毒症 AKI 发挥保护作用。

参考文献

- [1] Li N, Han L, Wang X, et al. Biotherapy of experimental acute kidney injury: emerging novel therapeutic strategies [J]. *Transl Res*, 2023, 261: 69-85.
- [2] Kuwabara S, Goggins E, Okusa M D. The pathophysiology of sepsis-associated AKI [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2022, 17(7): 1050-69.
- [3] Meng X M, Li H D, Wu W F, et al. Wogonin protects against cisplatin-induced acute kidney injury by targeting RIPK1-mediated necroptosis [J]. *Lab Invest*, 2018, 98(1): 79-94.
- [4] Lei L, Zhao J, Liu X Q, et al. Wogonin alleviates kidney tubular epithelial injury in diabetic nephropathy by inhibiting PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathways [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2021, 15: 3131-50.
- [5] Bellomo R, Kellum J A, Ronco C, et al. Acute kidney injury in sepsis [J]. *Intensive Care Med* 2017, 43(6): 816-28.
- [6] 陈旭,郑玉,彭泉,等. 汉黄芩素经 PTEN/PI3K/AKT 信号通路对乳腺癌细胞增殖的影响 [J]. *安徽医科大学学报*, 2021, 56(3): 363-8.
- [7] Zheng Z C, Zhu W, Lei L, et al. Wogonin ameliorates renal inflammation and fibrosis by inhibiting NF- κ B and TGF- β 1/Smad3 signaling pathways in diabetic nephropathy [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14: 4135-48.
- [8] Wang Z, Wu J, Hu Z, et al. Dexmedetomidine alleviates lipopolysaccharide-induced acute kidney injury by inhibiting p75NTR-mediated oxidative stress and apoptosis [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 5454210.
- [9] Pandya U M, Egbuta C, Abdullah Norman T M, et al. The biophysical interaction of the danger-associated molecular pattern (DAMP) calreticulin with the pattern-associated molecular pattern (PAMP) lipopolysaccharide [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(2): 408.
- [10] Zhang Z, Zhao H, Ge D, et al. β -casomorphin-7 ameliorates sepsis-induced acute kidney injury by targeting NF- κ B pathway [J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25: 121-7.
- [11] Lv H, Tian M, Hu P, et al. Overexpression of miR-365a-3p relieves sepsis-induced acute myocardial injury by targeting MyD88/

- NF- κ B pathway [J]. *Can J Physiol Pharmacol* ,2021 , 99(10) : 1007 - 15.
- [12] Guo Q , Jin Y , Chen X , et al. NF- κ B in biology and targeted therapy: new insights and translational implications [J]. *Signal Transduct Target Ther* ,2024 , 9(1) : 53.
- [13] Çomaklı S , Küçükler S , Değirmençay , et al. Quinacrine , a PLA2 inhibitor , alleviates LPS-induced acute kidney injury in rats: involvement of TLR4/NF- κ B/TNF α -mediated signaling [J]. *Int Immunopharmacol* ,2024 , 126: 111264.
- [14] Dickson K , Lehmann C. Inflammatory response to different toxins in experimental sepsis models [J]. *Int J Mol Sci* ,2019 , 20(18) : 4341.

Protective effect of wogonin on lipopolysaccharide-induced acute kidney injury in mice

Wang Jinni , Wang Jingjing , Wang Meixi , Wu Yonggui , Qi Xiangming

(*Dept of Nephrology , The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University , Hefei 230022*)

Abstract Objective To investigate the protective effect of wogonin on acute kidney injury (AKI) induced by lipopolysaccharide (LPS) . **Methods** The model of septic-induced AKI was established on male C57BL/6J mice by a single intraperitoneal injection of LPS and normal C57BL/6J mice were used as normal control group. Twenty-four male C57BL/6 mice were randomly divided into 4 groups (6 mice in each group) : normal control group (NC) , normal control + wogonin (NC + WOG 12.5 mg/kg) , LPS model group (LPS 10 mg/kg) , LPS model + wogonin (LPS 10 mg/kg + WOG 12.5 mg/kg) . After LPS intervention for 24 h , serum samples were collected to detect blood creatinine (CRE) and urea nitrogen (BUN) levels. HE staining and PAS staining were performed to observe the degree of renal pathological injury. Immunohistochemistry was performed to detect the degree of expression of inflammatory markers interleukin (IL) -1 β , IL-6 and tumor necrosis factor (TNF) - α in renal tissues. PCR was performed to detect the expression of *KIM-1* and *NGAL* in renal tissues. Western blot was performed to detect the changes in protein expression of NF- κ B signaling pathway subunits P65 and PP65 in renal tissues. **Results** Compared with NC group , CRE and BUN levels in LPS group increased ($F_{\text{CRE}} = 60.90$, $P < 0.001$, $F_{\text{BUN}} = 82.13$, $P < 0.001$) ; compared with LPS group , these indexes decreased in LPS + WOG group ($P < 0.001$) . PCR test results showed that compared with the NC group , the expression of *KIM-1* and *NGAL* mRNA was significantly increased in LPS group ($F_{\text{KIM-1}} = 146.3$, $P < 0.001$, $F_{\text{NGAL}} = 161.2$, $P < 0.001$) . In contrast , *KIM-1* and *NGAL* mRNA expression was decreased in the LPS + WOG group ($P < 0.01$) . Renal histopathological examination showed that compared with the NC group , renal tissues of mice had renal tubular dilatation and inflammatory cell infiltration in LPS group; compared with LPS group , the number of tubular dilatation reduced and inflammatory cell infiltration was reduced in LPS + WOG group ($F_{\text{HE}} = 721.4$, $P < 0.001$; $F_{\text{PAS}} = 518.9$, $P < 0.001$) . Immunohistochemical staining showed that the expression of IL-1 β , IL-6 and TNF- α was significantly increased in the LPS group; compared with the LPS groups ($F_{\text{IL-1}\beta} = 114.6$, $F_{\text{IL-6}} = 108.9$, $F_{\text{TNF-}\alpha} = 251.6$, all $P < 0.001$) , these indexes decreased in LPS + WOG group (all $P < 0.01$) . Further studies using Western blot showed that the NF- κ B signaling pathway of LPS-treated mice had been activated and produced a hyperphosphorylated state in comparison to the NC group ($F_{\text{PP65}} = 13.02$, $P < 0.01$) , yet this pathway in the LPS + WOG group showed the opposite effect , namely attenuated activity and reduced phosphorylation when the control was LPS ($P < 0.01$) . **Conclusion** WOG effectively blocked the NF- κ B signaling pathway in the LPS-induced acute kidney injury model mice , thereby attenuating the inflammatory response and tissue damage in the kidneys of LPS-induced acute kidney injury mice.

Key words sepsis; acute kidney injury; wogonin; inflammation