

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2016.15.017

益肾化瘀方对肾间质纤维化大鼠肾组织基质金属蛋白酶 1 及其抑制剂表达的影响

张琳琪^{*}, 朱建光², 汪青¹, 高志卿¹, 刘红亮¹, 王娇³

(1. 河南中医药大学第一附属医院, 河南省郑州市人民路 19 号, 450000; 2. 河南中医药大学; 3. 河南省中医药研究院)

摘要 目的 探讨益肾化瘀方治疗肾间质纤维化的可能作用机制。方法 将 126 只 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、缬沙坦组及益肾化瘀方高、中、低剂量组, 每组 21 只。除假手术组外各组采用单侧输尿管结扎法制备肾间质纤维化模型, 于造模后次日假手术组、模型组予生理盐水 20 ml/(kg·d), 益肾化瘀方高、中、低各剂量组分别予益肾化瘀方浓缩液 32、16、8 g/(kg·d), 缬沙坦组予缬沙坦胶囊溶液 13.3 mg/(kg·d), 每天灌胃 1 次, 共给药 28 天。分别于术后第 7、14、28 天(每个时间点取材 7 只)光镜下观察肾间质病理改变并进行肾间质纤维化评分, 检测大鼠肾组织中基质金属蛋白酶 1 (MMP-1) mRNA、基质金属蛋白酶组织抑制剂 1 (TIMP-1) mRNA 的表达。结果 光镜下 HE 和 Masson 染色显示, 模型组大鼠造模 7 天后各组大鼠即出现肾间质水肿, 间质内炎症细胞呈灶性浸润, 至 28 天大量肾小管萎缩或消失, 纤维化程度呈进展性加重。各治疗组肾间质炎症细胞浸润数量减少, 纤维化程度较模型组均有不同程度的减轻, 益肾化瘀方高剂量组与缬沙坦组的病理改变相当。与假手术组同时间点比较, 其余各组大鼠在第 14、28 天时肾间质纤维化评分及肾组织中 MMP-1 mRNA、TIMP-1 mRNA 表达均明显升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与模型组同时间点比较, 益肾化瘀方高、中、低剂量组和缬沙坦组大鼠在第 14、28 天时肾间质纤维化评分明显降低, 益肾化瘀方高剂量组在第 28 天时 MMP-1 mRNA 表达继续增加, 而在第 7、14、28 天时 TIMP-1 mRNA 表达明显降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论 益肾化瘀方可能通过抑制肾组织 TIMP-1 的表达, 纠正 MMP-1/TIMP-1 失衡, 从而显示出拮抗肾间质纤维化的作用。

关键词 肾间质纤维化; 益肾化瘀方; 基质金属蛋白酶; 基质金属蛋白酶组织抑制剂

肾间质纤维化 (renal interstitial fibrosis, RIF) 是在炎症、损伤等各种致病因素作用下一个复杂的病理修复过程, 其主要特征是细胞外基质的合成与降解失衡, 使细胞外基质在肾间质过度沉积^[1-2], 最终表现为肾组织正常结构破坏, 肾功能丧失。研究发现, 基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 作为一个特定群体的锌依赖性蛋白水解酶, 负责细胞外基质的代谢过程^[3], 而基质金属蛋白酶组织抑制剂 (tissue inhibitors of metalloproteinase, TIMPs) 是特定切断基质金属蛋白酶的抑制剂^[4], 两者的动态平衡在细胞外基质积聚和降解的生理平衡中起关键作用。如何调节它们之间的平衡来延缓或逆转肾间质纤维化以减少终末期肾功能衰竭发

生, 已成为近年来肾脏病研究的热点。本研究旨在既往研究^[5-6]的基础上, 观察益肾化瘀方对肾间质纤维化大鼠肾组织中 MMP-1、TIMP-1 表达的影响及调控, 以探讨该方干预肾间质纤维化的疗效和作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 126 只, 6~8 周龄, 体重 180~220 g, 购于北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物许可证号: SCXK (京) 2012-0001。

1.2 药物及主要试剂

益肾化瘀方组成: 黄芪 30 g, 菟丝子 15 g, 熟地黄 10 g, 丹参 30 g, 莪术 10 g, 由河南省中医院制剂室制备成含生药 1.6 g/ml 浓缩液备用; 缬沙坦胶囊 (80 mg/粒, 批号 X1555), 北京诺华制药有限

基金项目: 国家自然科学基金 (81373612)

* 通讯作者: zllq971688@126.com, (0371) 66231932

公司。10% 水合氯醛 (批号 20120827), 天津市光复精细化工研究所。动物组织总 RNA 提取试剂盒 (批号: RE-03012)、RT EasyTM II (First-strand cDNA synthesis for Real Time PCR, 批号: RT-01022)、Real Time PCR EasyTM-SYBR GreenI 试剂盒 (批号: QP-01012) 均为成都福际生物技术有限公司提供; 实时 PCR 引物 (Rat MMP-1、Rat TIMP-1、Rat GAPDH) 由生工生物工程 (上海) 股份有限公司设计并合成, GAPDH: 上游: AT-GACTCTACCCACGGCAAG, 下游: GGAAGATGGT-GATGGGTTTC, 87bp; MMP-1: 上游: CACTC-CCTTGACTCACTCA, 下游: CCCATATAAAGCCT-GGATGC, 123bp; TIMP-1: 上游: CATGGAGAGC-CTCTGTGGAT, 下游: TGTGCAAATTTCCGTTCTT, 92bp。

1.3 主要仪器

4.0 缝合线, 上海浦东金环医疗用品股份有限公司; 5500B Qwin Plus 光学显微镜, Leica 公司; DNA Engine 基因扩增仪, 伯乐生命医学产品 (上海) 有限公司; CFX Manager 分析软件, 伯乐生命医学产品 (上海) 有限公司; One DropTM OD - 2000 + Spectrophotometer 超微量核酸蛋白测定仪, 南京五义科技有限公司。

1.4 动物分组与造模

大鼠适应性饲养 1 周后采用随机数字表法分为假手术组、模型组、缬沙坦组及益肾化瘀方高、中、低剂量组, 每组 21 只。除假手术组外其余各组大鼠采用单侧输尿管结扎法^[7-8]制备肾间质纤维化模型: 先予 10% 水合氯醛麻醉大鼠, 选择左侧背部脊柱肋下约 1.0 cm 为切口, 依次分离切开皮肤、肌层至腹腔, 游离肾脏及输尿管。将左侧输尿管分离后托起中段部位, 分别在输尿管上 1/3 处和中 1/3 处用 4.0 缝合线结扎, 切断输尿管, 纳肾于原位, 逐层缝合皮肤。假手术组仅将左侧输尿管游离但不结扎离断。

1.5 给药方法

于造模后次日开始灌胃, 假手术组、模型组予生理盐水 20 ml/(kg · d), 益肾化瘀方高、中、低各剂量组分别予益肾化瘀方浓缩液 32、16、8 g/(kg · d), 缬沙坦组予缬沙坦胶囊溶液 13.3 mg/(kg · d)。每天灌胃 1 次, 每 3 天称体重调整药量, 共给药 28 天。

1.6 观察指标及方法

各组大鼠分别于术后第 7、14、28 天取材, 采

用随机数字表法每个时间点取 7 只, 取材前 12 h 前禁食, 4 h 前禁水。于各时相点腹主动脉取血, -20℃ 冰箱保存。然后处死动物, 摘取左侧肾组织并称重, 一部分固定于 4% 多聚甲醛。另一部分分装后立刻置于液氮内, 转入 -80℃ 冰箱保存备用。

1.6.1 大鼠肾脏病理观察 将已固定好的肾组织经常规梯度酒精脱水、浸蜡、进行石蜡包埋, 随后连续切片、脱蜡, 常规 HE 及 Masson 染色, 封片, 光学显微镜下观察肾脏病理。

1.6.2 肾间质纤维化评分 参考文献 [9-10] 方法, 以光学显微镜下 Masson 染色为主观察大鼠梗阻肾组织切片肾小管间质的病变程度, 依据小管扩张或萎缩变性、间质纤维化等的范围及程度进行评分, 0 分: 小管间质无病变 (0 ~ 5%); 1 分: 小管间质呈轻度病变, 病变范围 >5% 且 ≤25%; 2 分: 小管间质呈中度病变, 病变范围 >25% 且 ≤50%; 3 分: 小管间质呈重度病变, 病变范围 >50% 且 ≤75%; 4 分: 小管间质有极重度病变, 病变范围 >75%。

1.6.3 大鼠肾组织中 MMP-1 mRNA、TIMP-1 mRNA 的表达 采用实时荧光定量 PCR 法: 1) 总 RNA 提取: 取约 20 mg 肾组织, 按试剂盒说明书进行组织匀浆, 经 DNA-cleaning Column 离心过滤收集上清液并去除基因组 DNA, 经 RNA-only Column 离心, 洗涤去蛋白、脱盐, 最后滴加 100 μl ddH₂O 静置、离心, 收集 RNA 溶液。测定核酸溶液浓度在 260 波长下的光密度及 RNA 浓度。2) cDNA 的合成 (30 μl 体系): 将 2 × RT OR-Easy™ Mix15 μl, Template (RNA) x μl (注: x 根据各样品 RNA 浓度计算), Rnase-Free ddH₂O (15-x) μl 加入离心管中, 经 50℃ 孵育 30 min 以逆转录, 85℃ 孵育 5 min, 合成的 cDNA 置于 -80℃ 冰箱保存备用。3) 实时荧光定量 PCR 检测 (15 μl 体系): 取 PCR 管编号后加入 Mix-SYBR 7.5 μl, 上下游引物各 0.75 μl, cDNA 2 μl, ddH₂O 4 μl, 混匀, 置于荧光定量 PCR 仪内, 反应条件: 95.0℃ 5 min, 95.0℃ 30s; 50.0℃30s, 共 40 个循环。分析各基因扩增曲线与熔解曲线。以假手术组为对照组, GAPDH 为内参, 每一样本设 3 个重复, 记录 CT 值, 计算 CT 均值, 按 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算待测目的基因相对表达量。

1.7 统计学方法

运用 SPSS 19.0 统计软件进行数据分析, 计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠肾组织病理变化

肾组织 HE 及 Masson 染色显示,假手术组大鼠在整个实验过程当中肾组织病理形态均无明显异常。模型组大鼠术后 7 天就出现肾间质水肿,肾小管扩张,部分近端小管空泡变性,管腔内可见脱落的上皮细胞,有蛋白管型,间质内炎症细胞呈灶性浸润。随着梗阻时间延长,14 天时肾皮质较前变薄,间质增宽,间质内可见大量炎症细胞浸润及细胞增殖,部分肾小管出现萎缩、坏死及消失,肾间质纤维化;至 28 天大量小管萎缩或消失,间质纤维化呈进展性加重,在此过程中肾小球形态基本正常。益肾化瘀方各剂量组及缬沙坦组肾间质炎症细胞浸润数量减少,肾小管扩张或萎缩减轻,纤维化程度较模型组均有不同程度的减轻,肾小球数量无明显改变,益肾化瘀方高剂量组与缬沙坦组的病理改变相当。

2.2 各组大鼠不同时间点肾间质纤维化评分比较

表 1 示,与假手术组同时间点比较,其余各组大鼠在术后第 7、14、28 天时肾间质纤维化评分均明显升高 ($P < 0.01$)。与模型组同时间点比较,益肾化瘀方高剂量组和缬沙坦组大鼠在术后第 7、14、28 天时肾间质纤维化评分明显降低,而益肾化瘀方中、低剂量组在术后第 14、28 天时肾间质纤维化评分降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与益肾

化瘀方高剂量组同时间点比较,益肾化瘀方中、低剂量组在术后第 7、14、28 天时肾间质纤维化评分明显升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),而和缬沙坦组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.3 各组大鼠不同时间点肾组织中 MMP-1 mRNA、TIMP-1 mRNA 表达比较

表 2 示,与假手术组同时间点比较,其余各组大鼠在术后第 14、28 天时肾组织中 MMP-1 mRNA、TIMP-1 mRNA 表达均明显升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组同时间点比较,益肾化瘀方高剂量组在第 28 天时 MMP-1 mRNA 表达继续增加,而在术后第 7、14、28 天时 TIMP-1 mRNA 表达明显降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);益肾化瘀方中剂量组仅在第 28 天时 TIMP-1 mRNA 表达较模型组降低,缬沙坦组在术后第 14、28 天时较模型组降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。益肾化瘀方低剂量组在术后第 28 天时 TIMP-1 mRNA 表达亦明显高于益肾化瘀方高剂量组 ($P < 0.05$)。

3 讨论

肾间质纤维化与肾小管萎缩、肾小球硬化已被发现同为导致终末期肾脏病的独立危险因素^[1],是多种细胞、生长因子、细胞因子共同参与、相互作用,最终导致细胞外基质合成大于降解,以致过度沉积的结果^[2]。MMPs/TIMPs 是参与细胞外基质合成和降解的一个关键酶系,MMPs 作为一个内

表 1 各组大鼠不同时间点肾间质纤维化评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

分组	鼠数	术后 7 天	术后 14 天	术后 28 天
假手术组	7	0.13 ± 0.10	0.13 ± 0.05	0.11 ± 0.07
模型组	7	1.81 ± 0.35*	2.74 ± 0.39*	3.64 ± 0.40*
益肾化瘀方高剂量组	7	1.14 ± 0.26*△△	1.97 ± 0.20*△△	2.67 ± 0.28*△△
益肾化瘀方中剂量组	7	1.53 ± 0.29*▲	2.34 ± 0.29*△▲	3.01 ± 0.27*△△▲
益肾化瘀方低剂量组	7	1.79 ± 0.41*▲▲	2.43 ± 0.33*△▲▲	3.10 ± 0.41*△△▲
缬沙坦组	7	1.13 ± 0.27*△△	2.04 ± 0.29*△△	2.73 ± 0.32*△△

注:与假手术组同时间点比较,* $P < 0.01$;与模型组同时间点比较,△ $P < 0.05$, △△ $P < 0.01$;与益肾化瘀方高剂量组比较,▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$

表 2 各组大鼠不同时间点肾组织中 MMP-1 mRNA、TIMP-1 mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	鼠数	MMP-1 mRNA			TIMP-1 mRNA		
		术后 7 天	术后 14 天	术后 28 天	术后 7 天	术后 14 天	术后 28 天
假手术组	7	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.0	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
模型组	7	1.12 ± 0.20	1.22 ± 0.18*	1.33 ± 0.11**	1.27 ± 0.18**	1.71 ± 0.37**	2.46 ± 0.20**
益肾化瘀方高剂量组	7	1.01 ± 0.12	1.23 ± 0.20*	1.53 ± 0.17**△	1.05 ± 0.15△	1.30 ± 0.22*△△	2.07 ± 0.22**△△
益肾化瘀方中剂量组	7	1.03 ± 0.13	1.22 ± 0.21*	1.46 ± 0.19**	1.15 ± 0.11	1.49 ± 0.34**	2.20 ± 0.29**△
益肾化瘀方低剂量组	7	1.06 ± 0.14	1.21 ± 0.09*	1.38 ± 0.18**	1.16 ± 0.21	1.54 ± 0.19**	2.35 ± 0.24**▲
缬沙坦组	7	1.01 ± 0.19	1.26 ± 0.21**	1.47 ± 0.16**	1.03 ± 0.19	1.36 ± 0.19*△	2.08 ± 0.16**△△

注:与假手术组同时间点比较,* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与模型组同时间点比较,△ $P < 0.05$, △△ $P < 0.01$;与益肾化瘀方高剂量组比较,▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$

肽酶家族, 其中 MMP-1 是目前所知的肾组织内活性最强的一种 MMP, 它参与机体的绝大部分生理、病理过程, 在中性 pH 值环境中, 它能与多种 MMPs 成员一起协同降解细胞外基质中的大多数生物大分子物质^[3]。TIMPs 作为 MMPs 的天然抑制物, 是一组能够抑制 MMPs 活性的多功能因子^[4], 其中 TIMP-1 可特异性抑制 MMP-1、MMP-2、MMP-9 等, 在细胞外基质代谢中起着关键作用^[5]。研究发现, MMP-1 与 TIMP-1 的过度表达, 以及 MMP-1/TIMP-1 的比例失衡是造成细胞外基质过度沉积的主要原因, 是 RIF 发生及发展的关键, 因此如何维持两者的动态平衡, 成为延缓肾间质纤维化进程的关键点和目前研究的热点。

中医学认为, 肾间质纤维化病机特点表现应属“邪气实”, 因此, 在临床中活血、化瘀、泄浊等成为其主要的治疗方法。而瘀血作为邪实之首, 贯穿于 RIF 病变全过程^[6], 但其发生发展也是在一定条件下的正邪交争过程, 正如《素问·评热论》所言: “邪之所凑, 其气必虚”。肾间质纤维化的形成常常因患者正气相对薄弱, 不能抵御外来的六淫之邪、时行疫毒、药毒淫伤, 以致邪毒乘虚而入, 使五脏功能失调, 气血阴阳不平, 气机升降乖戾, 最终诸证丛生而为痼疾。因此肾中精气亏虚, 阴阳不足, 当为病变之本。补肾化瘀便成为目前临证常用之法^[7-18]。益肾化瘀方以益气补肾、活血化瘀、泄浊排毒见功, 既往研究^[9]表明, 益肾化瘀方通过抑制大鼠肾组织中 TGF- β 1 的早期高表达, 上调 Smad7 表达的活性, 从而在一定程度上抑制了 TGF- β 1 信号向细胞核内转导的途径, 减轻肾间质纤维化的程度。

本实验结果显示, 在同一时间点与假手术组比较, 模型组大鼠肾组织病理形态变化最为严重, 肾间质纤维化程度积分明显升高, 并随时间的延长病变及纤维化程度呈进行性加重。而各治疗组大鼠肾组织病理改变及纤维化程度在同一时间点有不同程度的减轻, 且以益肾化瘀方高剂量组及缬沙坦组病理改变减轻及纤维化程度积分降低最显著, 说明益肾化瘀方可减轻肾组织病理损伤、延缓纤维化进程。RT-PCR 结果显示, 与假手术组比较, 模型组及各给药组大鼠肾组织中 MMP-1 mRNA、TIMP-1 mRNA 的表达均表现出不同程度的升高, 经益肾化瘀方各剂量组干预后大鼠肾组织中 TIMP-1 mRNA 表达均有不同程度的下降, 其中以益肾化瘀方高剂量组与缬沙坦组降低最显著, 说明益肾化瘀方可能

通过抑制 TIMP-1 蛋白的表达, 纠正 MMP-1/TIMP-1 失衡, 促进细胞外基质成分的降解从而起到保护肾脏的作用。

参考文献

- [1] RAZZAQUE MS, TAGUCHI T. Cellular and molecular events leading to renal tubulointerstitial fibrosis [J]. Med Electron Microsc, 2002, 35 (2): 68-80.
- [2] 郑洪, 李德祥, 张锚链. TBM 介导的肾间质纤维化中细胞外基质和金属蛋白酶的动态变化 [J]. 遵义医学院学报, 2002, 25 (2): 100-102.
- [3] MARKOVIC-LIPKOVSKI J, ZIVOTIC M, MULLER CA, et al. Variable Expression of Neural Cell Adhesion Molecule Isoforms in Renal Tissue: Possible Role in Incipient Renal Fibrosis [J]. PLoS One, 2015, 10 (9): e0137028.
- [4] ABDELZIZ R, ELBSEL M, ESMAT S, et al. Tissue Inhibitors of Metalloproteinase-1 and 2 and Obesity Related Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Is There a Relationship [J]. Digestion, 2015, 92 (3): 130-137.
- [5] ZHANG LQ, LI WM, SUN W. Effect of yishen huayu fang on kidney tissue E-cadherin expression in unilateral ureter ligation in rats [J]. J Tradit Chin Med, 2012, 32 (2): 273-277.
- [6] 张琳琪, 高志卿, 李伟明. 益肾化瘀方对肾间质纤维化大鼠肾组织中 CTGF 蛋白表达的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2009, 24 (11): 1500-1502.
- [7] 陈香美. 肾脏病学实验技术操作规程 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2011: 199-200.
- [8] LIU XJ, HONG Q, WANG Z, et al. MicroRNA21 promotes interstitial fibrosis via targeting DDAH1: a potential role in renal fibrosis [J]. Mol Cell Biochem, 2016, 411 (1/2): 181-189.
- [9] 任福卓, 段惠军, 史永红. P-Smad2 /3、Smad7 在大鼠实验性肾间质纤维化模型中的表达 [J]. 基础医学与临床, 2006, 26 (8): 871-876.
- [10] 马艳苗, 王永辉, 周然. 肾脏病理损伤评价在实验和临床研究中的应用前景 [J]. 世界中西医结合杂志, 2010, 5 (3): 266-268.
- [11] 赵明辉, 王海燕. 近 10 年肾脏病学领域的主要进展 [J]. 中华内科杂志, 2013, 52 (2): 127-129.
- [12] OKADA H, KALLURI R. Cellular and molecular pathways that lead to progression and regression of renal fibrogenesis [J]. Curr Mol Med, 2005, 5 (5): 467-474.
- [13] 吴晓英, 陈卫昌, 沈玉玲, 等. MMP-1 和 TIMP1 在人胃癌组织中的表达及临床意义 [J]. 江苏医药, 2008, 34 (12): 1200-1202.
- [14] MUSIAL K, BARGENDA A, ZWOLINSKI. Urinesurvivin, E-cadherin and matrix metalloproteinases as novel biomarkers

- ers in children with chronic kidney disease [J]. *Biomarkers*, 2015, 20(3):177-182.
- [5] BACKER AH, ZALTSMAN AB, GEORGE SJ, et al. Divergent effects of tissue inhibitor of metalloproteinase 21, 22, or 23 overexpression on rat vascular smooth muscle cell invasion, proliferation and death in vitro [J]. *J Clin Invest*, 1998, 101(6):1478-1487.
- [6] 张琳琪, 刘红亮. 慢性肾衰竭中医邪实证证候分布规律 [J]. *河南中医学院学报*, 2009, 24(1):61-62.
- [7] 陈继红, 高坤. 孙伟以肾虚湿瘀立论揭示慢性肾脏病发病机制 [J]. *辽宁中医杂志* 2007, 34(4):420.
- [8] 沈烨渠, 何立群. 补肾益气法防治肾间质纤维化机制研究概况 [J]. *中医杂志*, 2010, 51(5):468-470.
- [9] 张琳琪, 赵永钦, 刘瑞勇. 益肾化瘀方对 UUO 大鼠 TGF- β 1、Smad7 表达的调控作用 [J]. *中医杂志*, 2014, 55(17):1498-1501.

Impact of *Yishen Huayu Decoction* (益肾化瘀方) on the Expressions of Matrix Metalloproteinase-1 and Its Inhibitor in Renal Tissue of Renal Interstitial Fibrosis Rats

ZHANG Linqi¹, ZHU Jianguang², WANG Qing¹, GAO Zhiqing¹, LIU Hongliang¹, WANG Jiao³

(1. First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine; Zhengzhou, 450000; 2. Henan University of Chinese Medicine; 3. Academy of Chinese Medicine of Henan Province)

ABSTRACT Objective To explore the possible mechanism of *Yishen Huayu Decoction* (益肾化瘀方) in treating renal interstitial fibrosis (RIF). **Methods** Totally 126 SD rats were randomly divided into sham operation group, model group, valsartan group, high, medium and low dose *Yishen Huayu Decoction* group, with 21 rats in each group. Rats in other groups were established RIF models by unilateral ureter ligation method except the sham operation group. From the second day of modeling, the sham operation group and the model group were given normal saline 20ml/(kg·d). The high, medium and low dose *Yishen Huayu Decoction* groups were given *Yishen Huayu Decoction* in concentration 32, 16 and 8 g/(kg·d) respectively. The valsartan group was given valsartan capsule solution 13.3 mg/(kg·d), gavaged once every day, for 28 days. On the 7th, 14th and 28th day after operation (7 rats were examined at each time point), pathological changes of renal interstitial were examined under optic microscope. Renal interstitial fibrosis was scored. The expressions of matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) mRNA and tissue inhibitor matrix metalloproteinase-1 (TIMP-1) mRNA in rats' nephridial tissue were detected. **Results** Under optic microscope, HE stain and Masson stain showed that 7 days after modelling, rats showed renal interstitial edema. Interstitial inflammatory corpuscles showed focal infiltration. A large number of renal tubular atrophied or disappeared until the 28th day. The fibrosis degree showed progressive aggravation. Inflammatory corpuscles infiltration reduced in all treated groups. The fibrosis degree in the treated groups relieved by varying degrees compared with that in the model group. The pathological changes in the high dose *Yishen Huayu Decoction* group were similar to those in the valsartan group. Compared with the sham operation group at the same time point, the RIF scores and the expressions of MMP-1 mRNA and TIMP-1 mRNA in nephridial tissue of rats in other groups all increased on the 14th and 28th day ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the model group at the same time point, the RIF scores in the high, medium and low dose *Yishen Huayu Decoction* groups and the valsartan group decreased significantly on the 14th and 28th day. The expression of MMP-1 mRNA in the high dose *Yishen Huayu Decoction* group continued to increase on the 28th day. While the expression of TIMP-1 mRNA decreased on the 7th, 14th and 28th day ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** *Yishen Huayu Decoction* might correct MMP-1/TIMP-1 imbalance by inhibiting the expression of TIMP-1 in nephridial tissue and showed the effect of resisting RIF.

Keywords renal interstitial fibrosis; *Yishen Huayu Decoction* (益肾化瘀方); matrix metalloproteinase; tissue inhibitors of metalloproteinase

(收稿日期: 2015-10-27; 修回日期: 2016-02-05)

[编辑: 邓媛]