·论 著·

基质金属蛋白酶-2 和基质金属蛋白酶-9 在全氟异丁烯吸入性肺损伤中的作用

郑敏[1,2]，柳月珍[2]，邹春平[2]，杨丽梅[1,3]，刘莉[2]，许兴兴[1]，焦玉梅[1]，丁日高[1]，张东泉[2]，赵建[1]

（1. 抗毒药物与毒理学国家重点实验室，军事医学科学院毒物药物研究所，北京 100850；2. 浙江衢化医院，浙江 衢州 324004；3. 武警后勤学院防护医学教研室，天津 300309）

摘要：目的 阐明全氟异丁烯（perfluoroisobutylene，PFIB）吸入暴露致大鼠急性肺损伤形成过程中肺组织内基质金属蛋白酶-2（matrix metalloproteinase 2，MMP-2）和基质金属蛋白酶-9（MMP-9）的变化规律，评价分析盐酸四环素（tetracycline hydrochloride，TET）对大鼠 PFIB 吸入性急性肺损伤（acute lung injury，ALI）的治疗作用及其作用机制，为临床防治化学源性肺损伤提供参考。**方法** 自制大鼠全身暴露动态吸入染毒系统构建大鼠 PFIB 吸入性 ALI 模型。在 PFIB 暴露前后不同时间采集支气管肺泡灌洗液（bronchoalveolar lavage fluid，BALF）和组织样品，测定肺系数、BALF 中蛋白质和磷脂，并采用酶谱分析检测 BALF 和肺组织中 MMP-2 和 MMP-9 活性。**结果** 亚致死剂量 PFIB 吸入暴露可诱导形成典型的 ALI。在正常大鼠肺组织中 MMP-2 和 MMP-9 活性极低，在 BALF 中几乎检测不到 MMP-9。在亚致死剂量 PFIB 染毒组大鼠肺组织和 BALF 中，MMP-2 活性显著性升高，而且其前体 pro-MMP-2 活性亦出现显著性升高；MMP-9 仅观察到升高的趋势性变化，但差异无统计学意义。TET 治疗能够显著改善 PFIB 吸入性急性肺损伤，而且能剂量依赖性的抑制肺组织和 BALF 中 MMP-2 活性，高剂量 TET 治疗可使肺组织中 MMP-2 活性降低至正常水平；其对 pro-MMP-2 的结果也相似。**结论** pro-MMP-2 与 MMP-2 在 PFIB 吸入性急性肺损伤大鼠肺组织和 BALF 中表达水平显著升高，且与 ALI 的进程高度一致；TET 治疗能够显著下调 pro-MMP-2 与 MMP-2 的表达，从而减轻肺组织的损伤。提示这些 MMPs 在吸入 PFIB 所致 ALI 的发生过程中可能起着重要作用。

关键词： 全氟异丁烯（PFIB）；急性肺损伤（ALI）；基质蛋白酶类（MMPs）；盐酸四环素（TET）

中图分类号：R994.3 **文献标识码：**A **文章编号：**1002-221X(2017)05-0323-06 **DOI：**10.13631/j.cnki.zggyyx.2017.05.001

Effect of MMP-2 and MMP-9 on acute lung injury induced by perfluoroisobutylene inhalation

Zheng min*, Liu Yuezhen, Zou Chunping, Yang Limei, Liu Li, Xu Xingxing, Jiao Yumei, Ding Rigao, Zhang Dongquan, Zhao Jian

(*. *State Key Laboratory of Antidote and Toxicology*, *Institute of Pharmacology and Toxicology*, *Academy of Military Medical Sciences*, *Beijing* 100850, *China*)

Abstract: Objective To study the change rule of MMP-2 and MMP-9 during the process of acute lung injury in rats induced by perfluoroisobutylene (PFIB) inhalation, evaluate the therapeutic effect of tetracycline hydrochloride (TET) on acute lung injury (ALI) induced by PFIB, analyze its mechanism and provide reference for clinical prevention and treatment of chemical lung injury. **Methods** Wistar rats were exposed to gaseous PFIB in a whole body exposure system, take the samples of bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and lung tissues for the detection of lung coefficient, protein and phosphatide contents in BALF, meanwhile, the activity of MMP-2 and MMP-9 in BALF and lung tissue were also detected by zymography analysis technique. **Results** The results showed that the sub-lethal dose PFIB-inhalation could induce typical ALI; the activities of MMP-2 and MMP-9 in normal rat lung tissue and BALF were extremely low, but MMP-2 and its precursor pro-MMP-2 were all significantly increased in lung tissue and BALF of PFIB exposed rats, the MMP-9 was only observed some upward trend no statistical significance. TET could significantly alleviate the ALI induced by PFIB and dose-dependently inhibit the activity of MMP-2 in lung tissue and BLAF, high dose of TET could reduce MMP-2 and pro-MMP-2 to normal levels. **Conclusion** The results showed that the upward expression of pro-MMP-2 and MMP-2 both in lung tissue and BALF of PFIB-inhaled rats was highly consistent with the course of ALI; while TET could reduce the expression of pro-MMP-2 and MMP-2 in lung tissue, alleviate lung injury, which suggested that these two kinds of MMPs may play an important role in ALI induce by PFIB inhalation.

Key words: perfluoroisobutylene (PFIB); acute lung injury (ALI); matrix metalloproteinases (MMPs); tetracycline hydrochloride (TET)

收稿日期：2017-04-20；**修回日期：**2017-07-07

基金项目：国家“重大新药创制”科技重大专项（2015ZX09J15104）；浙江省自然科学基金（Y13H240001）

作者简介：郑敏（1983—），男，检验技师，主要从事肺损伤研究。

通信作者：张东泉，主任医师，主要从事肺损伤研究；赵建，副研究员，医学博士，主要从事化学毒物毒理学和抗毒药物研究，E-mail：jian_zhao@126.com。

全氟异丁烯(perfluoroisobutylene,PFIB)是全氟丁烯的一种异构体,是氟聚合物(如聚四氟乙烯,又名特氟隆)工业生产过程中一种常见的副产物,也多见于火灾等意外事故生成的有毒烟雾中,可穿透防毒面具[1]。PFIB 毒性远高于其它异构体,据文献报道[2,3],其毒性比光气强约 10 倍,少量吸入就可产生急性肺损伤(acute lung injury,ALI),严重者可出现肺水肿乃至死亡,迄今尚无特效救治药物和防治措施。

PFIB 吸入性 ALI 以急性、进行性呼吸困难,顽固性低氧血症及胸部 X 线显示双肺弥漫性浸润为主要特征[4,5]。其主要病理改变为肺毛细血管基底膜受损,通透性增高,引起肺间质和肺泡渗出性肺水肿和透明膜形成[6,7]。前期研究证实[8],在多种因素(如 LPS、缺血再灌注等)诱导所致急性肺损伤中,肺组织局部聚集的中性粒细胞释放过量蛋白分解酶,如弹性蛋白酶(neutrophil elastase,NE)[9]、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases,MMPs)[10]等,造成细胞骨架和血气屏障结构损伤[11~14],基底膜破坏,并促进炎症过程中有关细胞的迁移以及 ECM 重建,在 ALI 的发病过程中发挥重要作用[15]。上述研究提示,在 PFIB 吸入性 ALI 中,基质金属蛋白酶系统发挥了重要作用,但其表达规律与作用尚未完全阐明。

其他因素所致 ALI 研究中[16],MMP-2 和 MMP-9 的研究相对比较成熟。这两种酶可能从以下几方面促进急性肺损伤:(1)直接作用于细胞外基质使其降解。中性粒细胞、巨噬细胞等炎症细胞被激活后使得 MMP-9 过度激活和表达,降解肺泡毛细血管基底膜中Ⅳ型胶原和层粘蛋白等成分,使其通透性增加,导致肺损伤。(2)可作为中性粒细胞的趋化因子,引起中性粒细胞在肺内聚集。(3)通过增加弹性蛋白酶的活性而间接导致基底膜的损伤。(4)通过调节炎症因子的水平从而参与急性肺损伤的发生发展[17,18]。

鉴于 PFIB 吸入性 ALI 机制尚未完全阐明且缺乏特效救治药物与措施,目前临床上多采取对症支持治疗(如机械通气、呋噻米和托拉噻米等利尿剂治疗),通过减少肺部积水,改善肺通气,缓解缺氧症状[19],但是中毒患者死亡率仍居高不下。盐酸四环素(tetracycline hydrochloride,TET)除作为广谱抗生素外,尚具有多种非抗生素作用。TET 可以限制中性粒细胞胶原酶和上皮细胞明胶酶的基因表达,减少 MMPs 合成,同时抑制 MMPs(如胶原酶、明胶酶等)和 NE 的酶活力。前期药物筛选研究过程中就发现 TET 及化学改型四环素(多西环素和米诺环素)对 PFIB 吸入性肺损伤有明显的预防作用[20~22]。鉴于此,本文拟采用酶谱分析法研究 MMP-2 和 MMP-9 在 PFIB 吸入性 ALI 中的作用及变化规律,并对四环素可能的抗 PFIB 吸入性 ALI 的作用机制进行研究。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

PFIB(上海有机氟材料研究所,纯度:98%),TET(纯度 99%)、明胶、MMP-2、MMP-9(美国 Sigma 公司),磷脂检测试剂盒(Wako 公司),UVP 凝胶成像系统(美国 UVP 公司)。

1.2 实验动物与分组

SPF/VAF 级 Wistar 雄性大鼠,体质量 180~220 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供[合格证号 SCXK(京)2012—001]。实验前先适应性喂养 2~3 d,自由饮食饮水,每笼饲养 6 只,于染毒前禁食 1 夜。

1.2.1 PFIB 吸入性肺损伤肺内基质金属蛋白酶酶谱分析实验分组 实验设 7 个处理组,即正常对照组(NC 组)与 PFIB 染毒后 3 h、6 h、12 h、24 h、72 h 和 168 h 组,每组 6 只大鼠,染毒前后每天称量动物体质量并记录,分别在染毒后 3 h、6 h、12 h、24 h、72 h 和 168 h 时处死大鼠。

1.2.2 TET 治疗对 PFIB 染毒动物肺内基质金属蛋白酶的影响观察分组 将 36 只大鼠随机分为 6 组,每组 6 只。正常对照组(NC 组),腹腔注射(1.0 ml/100 g)生理盐水;TET 药物对照组(TET-C),在空气暴露后 1 h,腹腔注射中剂量 TET(28 mg/kg);PFIB+NS 组(PFIB-C),PFIB 染毒后 1 h,腹腔注射(1.0 ml/100 g)生理盐水;PFIB+TET 低剂量组(TET-L),PFIB 染毒后 1 h,腹腔注射低剂量 TET(14 mg/kg);PFIB+DOX 中剂量组(TET-M),在 PFIB 染毒后 1 h,腹腔注射中剂量 TET(28 mg/kg);PFIB+TET 高剂量组(TET-H),PFIB 染毒后 1 h,腹腔注射高剂量 TET(56 mg/kg)。染毒前及染毒后 24 h 称量动物体质量并记录。

1.3 实验方法

1.3.1 正向明胶酶谱法 将样品进行 SDS-PAGE(含 0.1%明胶)电泳分离,并在含有二价金属离子的缓冲系统中使样品中的 MMP-2 和 MMP-9 恢复活性并孵育,然后采用考马斯亮蓝进行染色,以检测 MMP-2 和 MMP-9 的活性。

1.3.2 逆向明胶酶谱法 将样品进行 SDS-PAGE(含 0.1%明胶和 MMP-2 或 MMP-9)电泳分离,然后在有二价金属离子存在的缓冲系统中使样品中的 MMP-2 或 MMP-9 恢复活性并孵育,最后用考马斯亮

蓝将凝胶染色，再脱色，在白色背景下可出现蓝色条带，条带的强弱与基质金属蛋白酶的组织抑制剂-1（TIMP-1）和基质金属蛋白酶的组织抑制剂-2（TIMP-2）活性成正比。

1.4 检测指标

1.4.1 肺系数测定 在 PFIB 染毒后指定时间点，动物于麻醉后经腹主动脉放血处死。待血液排净后，打开胸腔，分离出气管并于气管分叉处结扎右支气管，将右气管连同全肺及右肺副叶全部取出，剔除肺外组织，生理氯化钠漂洗，滤纸吸干后测量湿肺净重。肺系数=（湿肺净重/体质量）×10 000。

1.4.2 肺组织匀浆和 BALF 的制备及蛋白含量测定 在取出右肺后，经左支气管插管，参照文献[5]所述方法制备支气管肺泡灌洗液（BALF）。右肺（副叶除外）用于制备 10% 肺组织匀浆。Lowry 法测 BALF 中总蛋白含量，采用 Wako 公司磷脂试剂盒测定磷脂含量。

1.4.3 MMP-2 和 MMP-9 及其抑制酶活性检测 采用明胶酶谱法检测 MMP-2 和 MMP-9 及其 TIMP-1 和 TIMP-2 的活性。

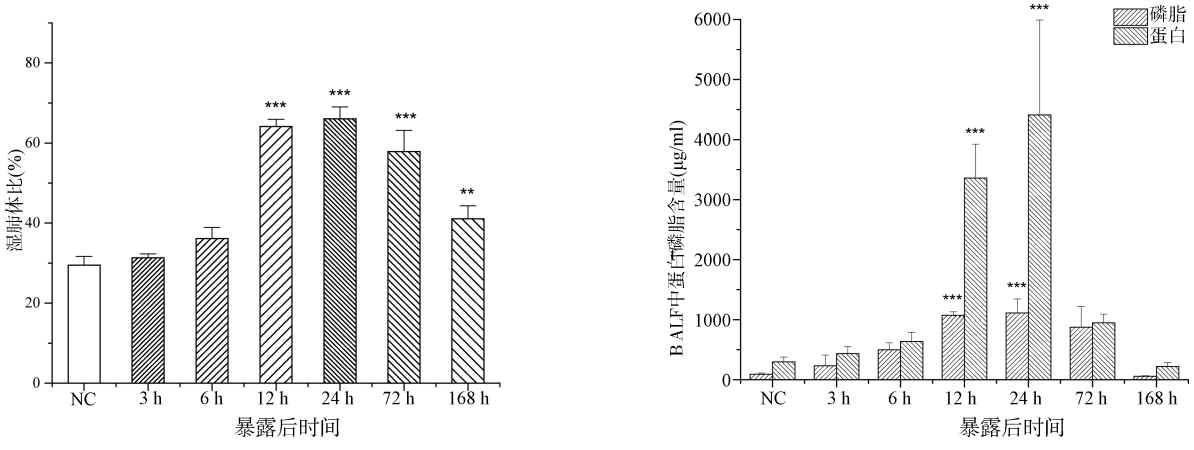
1.5 统计学方法

采用方差分析进行统计分析，采用 Dunnet' t 检验进行 PFIB 染毒后各时间点与正常对照组的比较，其数据的表示形式为$\bar{x}\pm s$。

2 结果

2.1 PFIB 吸入性肺损伤肺内基质金属蛋白酶酶谱分析实验

2.1.1 PFIB 染毒前后大鼠肺系数测定结果和 BALF 中蛋白质和磷脂的含量变化 PFIB 暴露后 6 h，可观察到肺系数较正常对照组明显升高，并持续升高至染毒后 72 h，在暴露后 168 h 有所回落。BALF 中蛋白质和磷脂的含量变化与肺系数变化相似，提示 PFIB 吸入暴露后肺血气屏障通透性进行性升高，肺表面活性物质损失进行性加剧。见图 1。



注：与对照组比较，＊＊0.01<P<0.001；＊＊＊P<0.001

图 1 PFIB 染毒前后大鼠肺系数测定结果和 BALF 中蛋白磷脂的含量变化

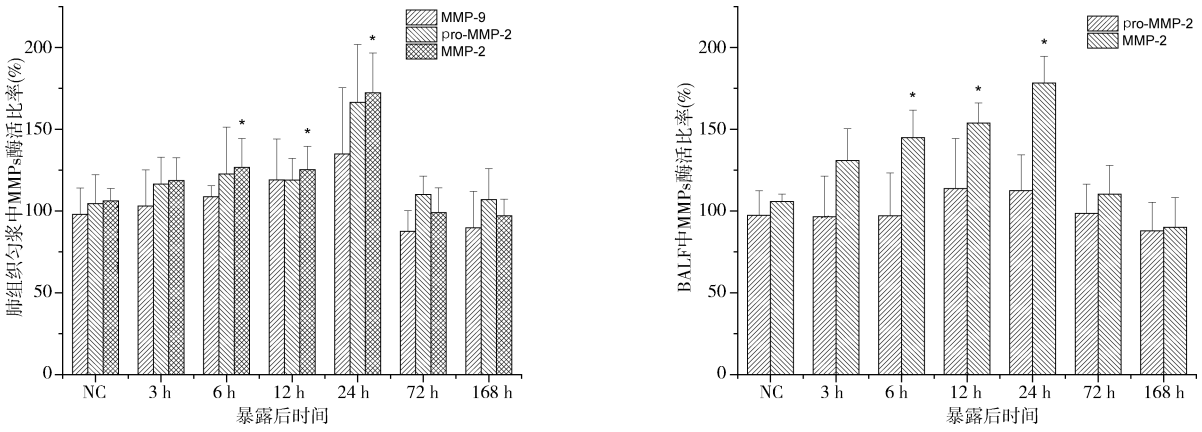
2.1.2 PFIB 染毒前后大鼠肺组织大体病理学观察 在 PFIB 暴露后既定时间点解剖动物时，肉眼可见，随着染毒后时间延长，实验动物肺组织逐渐出现瘀血、水肿，并进行性加重；至染毒后 24 h，受试动物全肺呈现弥漫性水肿、瘀血表现，其后随着肺水肿逐渐恢复，肺部瘀血、水肿等表现逐渐减少，但肺体积仍较正常对照组大。

2.1.3 PFIB 染毒前后大鼠肺组织和 BALF 中 MMP-2 和 MMP-9 活性 明胶酶谱法测定结果表明，PFIB 吸入暴露后肺组织和 BALF 中均观察到 MMP-2 活性进行性升高，至暴露后 24 h 达峰，其后缓慢降低至染毒后 72 h，基本恢复至正常水平，而且其前体 pro-MMP-2 的活性也较正常对照组显著性升高（图 2）。与肺损伤（肺系数、BALF 中蛋白质和磷脂含量）严重程度的变化在时间上高度吻合。而肺组织中 MMP-9 活性仅出现升高的趋势，差异无统计学意义。

2.1.4 PFIB 染毒前后大鼠肺组织中 TIMP-1 和 TIMP-2 活性 在 PFIB 暴露后 12 h 和 24 h，肺 TIMP-1 和 TIMP-2 表达出现降低的趋势性改变，但差异无统计学意义。

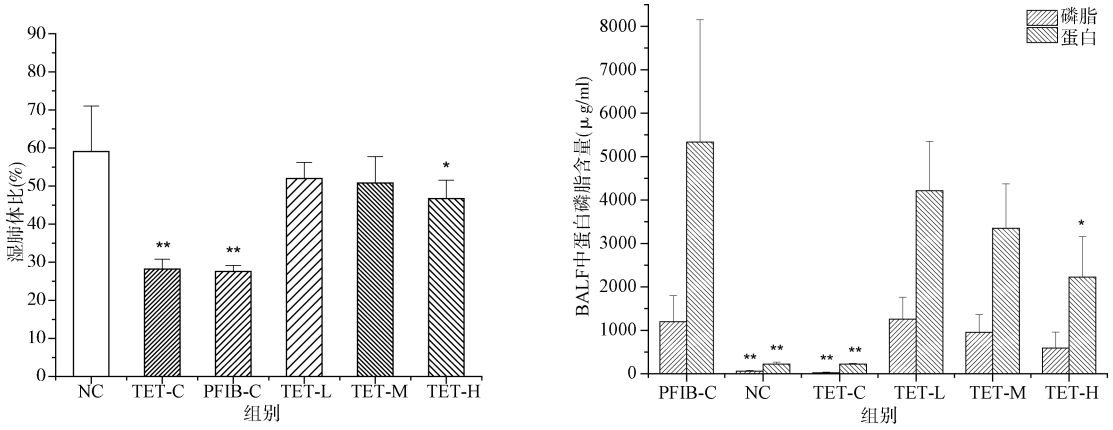
2.2 TET 治疗对 PFIB 染毒动物肺内基质金属蛋白酶的影响

2.2.1 TET 治疗对 PFIB 吸入性肺损伤的作用——肺系数和 BALF 中蛋白磷脂含量的变化 在 PFIB 暴露后 1 h，经腹腔注射不同剂量 TET 治疗，结果发现，BALF 中蛋白质和磷脂含量变化与肺系数变化相似（图 3），说明 TET 能剂量依赖性的减轻 PFIB 吸入性 ALI，减少肺内固形物（如蛋白质和细胞）漏出。



注：与对照组比较，$*P<0.05$

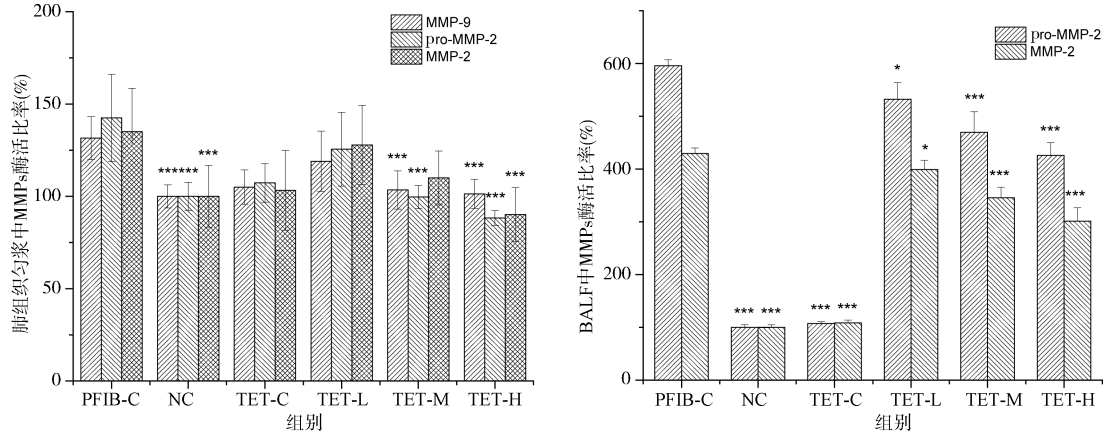
图 2　PFIB 染毒后大鼠肺组织和 BALF 中 MMP-2、pro-MMP-2 和 MMP-9 酶活变化



注：与 PFIB-C 相比，$*P<0.05$；$**0.01<P<0.001$

图 3　TET 治疗 PFIB 染毒大鼠肺系数与 BALF 中蛋白磷脂含量变化

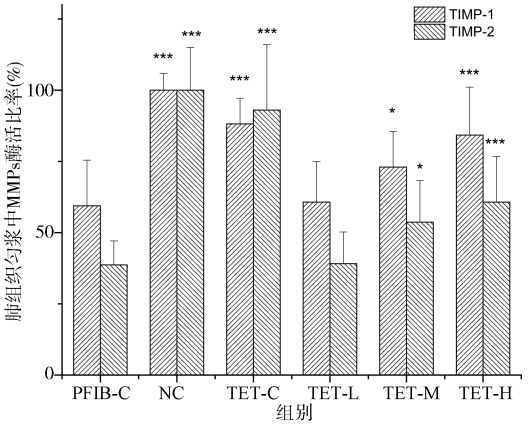
2.2.2　TET 治疗对 PFIB 染毒大鼠肺组织和 BALF 中 MMP-2 和 MMP-9 活性的影响　酶谱法测定结果表明，TET 能剂量依赖性的降低肺组织和 BALF 中 MMP-2 活性，其中高剂量 TET 能使肺组织中的 MMP-2 活性恢复到正常水平。其前体 pro-MMP-2 的变化与 MMP-2 的结果相似。肺组织中 MMP-9 活性也与 TET 浓度剂量呈负相关（图 4）。



注：与 PFIB-C 相比较，$*P<0.05$；$***P<0.001$

图 4　TET 治疗 PFIB 染毒大鼠肺组织与 BALF 中 MMP-2，pro-MMP-2 和 MMP-9 含量变化

2.2.3 TET 治疗对 PFIB 染毒大鼠肺组织中 TIMP-1 和 TIMP-2 活性的影响 TET 能剂量依赖性的增强肺 TIMP-1 和 TIMP-2 的活性（图 5）。



注：与 PFIB-C 相比较，$*P<0.05$；$***P<0.001$

图 5 TET 治疗 PFIB 染毒大鼠肺组织 TIMP-1 和 TIMP-2 酶活性变化

3 讨论

目前对于 ALI，尤其是化学源性肺损伤，临床上尚无特效解救药物和防治措施，大多采用大剂量激素冲击疗法和对症支持治疗，效果不理想，病死率居高不下。近年来的研究发现蛋白酶-抗蛋白酶系统在 ALI 发病过程中发挥着关键性的作用，Bittencourt-Mernak 等[23]用 LPS 诱导 ALI 时发现，损伤 6 h 后，出现巨噬细胞聚集、胶原纤维沉积，核因子 κB（NF-κB）和 MMP-9 表达上升；Yeh 等[24]用缺血再灌注诱导 ALI 时发现，损伤 5 h 后，MMP-2 和 MMP-9 表达水平明显上升，与肺损伤的发生及严重程度密切相关；Amado 等[25]在机械通气诱导的 ALI 时发现，损伤后 MMP-2 和 MMP-9 表达水平上升且白细胞介素-10（IL-10）减少。因此，MMP-2 和 MMP-9 被认为与 ALI 密切相关。本文的研究结果也证实在 PFIB 吸入性肺损伤中 pro-MMP-2、MMP-2 和 MMP-9 的活性升高以及 TIMP-1 和 TIMP-2 活性降低与肺损伤形成一致，尤其以 MMP-2 为主，提示这些基质金属蛋白酶可能参与 PFIB 吸入暴露后肺损伤的形成。

TET 是一种广谱抗生素，且尚具有多种非抗生素作用。Guo 等[26]研究发现，在 LPS 诱导的 ALI 模型中，TET 能抑制中性粒细胞弹性蛋白酶与 MMP-9 表达，防止炎症细胞的浸润；在缺血再灌注导致的肺损伤模型中，Roy 等[27]发现 TET 下调 IFN-γ、IL-1β、TNF-α、IL-6 和 IL-10 等促炎细胞因子表达。

本实验结果显示在 PFIB 吸入暴露所致大鼠 ALI 中，在 PFIB 暴露后早期应用 TET 可以剂量依赖性的减轻肺损伤，而且能够明显抑制肺组织和 BALF 中 pro-MMP-2、MMP-2 和 MMP-9 等的活性，促进 TIMP-1 和 TIMP-2 活性恢复，进一步证实了在 PFIB 吸入性肺损伤中蛋白酶-抗蛋白酶系统的失衡是其发生发展的关键作用机制，采用蛋白酶抑制剂进行治疗有望减轻肺损伤。

综上所述，在以过度炎症反应为主要环节的肺损伤中，蛋白酶-抗蛋白酶系统的失衡是肺损伤形成的一个关键环节，蛋白酶抑制剂有望发展成为一种针对 ALI 的临床治疗方法。

参考文献：

[1] Luzina E L, Popov A V. Synthesis of 3, 3, 3-trifluoroethyl isocyanate, carbamate and ureas. Anticancer activity evaluation of *N*- (3, 3, 3-trifluoroethyl) -*N'*-substituted ureas [J]. J Fluor Chem, 2015, 47 (176): 82-88.

[2] Luh S P, Chiang C H. Acute lung injury/acute respiratory distress syndrome (ALI/ARDS): the mechanism, present strategies and future perspectives of therapies [J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2007, 8 (1): 60-69.

[3] Butt Y, Kurdowska A, Allen T C. Acute lung injury: A clinical and molecular review [J]. Arch Pathol Lab Med, 2016, 140 (4): 345-350.

[4] 张东泉，赵建，胡祖良，等. 兔全氟异丁烯急性吸入暴露的肺影像学变化 [J]. 中国工业医学杂志，2015，28 (4)：277-278.

[5] 刘芳，张东泉，许兴兴，等. 低剂量全氟异丁烯致大鼠急性肺损伤及清开灵早期治疗长期效果观察 [J]. 中国药理学与毒理学杂志，2016，64 (5)：517-525.

[6] Miyashita T, Ahmed A K, Nakanuma S, *et al*. A Three-phase approach for the early identification of acute lung injury induced by severe sepsis [J]. In Vivo, 2016, 30 (4): 341-349.

[7] Liu H, Yu X, Yu S, *et al*. Molecular mechanisms in lipopolysaccharide-induced pulmonary endothelial barrier dysfunction [J]. Int Immunopharmacol, 2015, 29 (2): 937-946.

[8] Guo N, Xu Y, Cao Z. Absinthin attenuates LPS-induced ALI through MIP-1alpha-mediated inflammatory cell infiltration [J]. Experimental Lung Research, 2015, 41 (9): 514-524.

[9] Iwata K, Doi A, Ohji G, *et al*. Effect of neutrophil elastase inhibitor (sivelestat sodium) in the treatment of acute lung injury (ALI) and acute respiratory distress syndrome (ARDS): a systematic review and meta-analysis [J]. Intern Med, 2010, 49 (22): 2423-2432.

[10] Davey A, McAuley D F, O'Kane C M. Matrix metalloproteinases in acute lung injury: mediators of injury and drivers of repair [J]. Eur Respir J, 2011, 38 (4): 959-970.

[11] Warner R L, Bhagavathula N, Nerusu K C, *et al*. Matrix metalloproteinases in acute inflammation: induction of MMP-3 and MMP-9 in fibroblasts and epithelial cells following exposure to pro-inflammatory mediators in vitro [J]. Exp Mol Pathol, 2004, 76 (3): 189-195.

[12] Tan R J, Fattman C L, Niehouse L M, *et al*. Matrix metalloproteinases promote inflammation and fibrosis in asbestos-induced lung injury in mice [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2006, 35 (3): 289-297.

（下转第 336 页）

环境更为恰当。混料、过筛岗位的钴元素浓度最高，因其暴露比值较高，因而风险等级最高。

根据工作场所职业病危害作业分级的管理原则，相对无害作业可继续维持目前的作业方式和保护措施。过筛岗位为中度危害作业级别，很可能引起劳动者的健康损害，应及时采取纠正和管理行动，限期完成整改。混料岗位为重度危害作业，极有可能引起劳动者的严重健康损害，应明确标示，立即采取整改措施。劳动者必须使用个人防护用品，并保证其实际接触水平达到职业卫生标准要求。由于该企业规模大，暴露人数较多，造成其作业条件等级较高，所以控制暴露强度、减少暴露时间人数、提高作业工人个人防护用品使用率、优化作业环境，可以有效降低职业健康风险等级。

综上所述，职业危害风险评估指数法能够更加准确、全面地评估接触硬质合金粉尘引发的职业健康风险，但应该以钴浓度进行评估更为恰当。硬金属粉尘作业中，应加强对混料、过筛、球磨干燥和深加工等重点岗位的危害控制和管理；尽快研发新工艺、新设备，加强职工管理，要求工人统一佩戴滤盒半面罩或3M 防尘口罩，作业时必须穿工作服减少皮肤暴露，定期对作业工人进行健康监护；国家应尽快制定相应的规范和标准以保护劳动者健康。

参考文献：

[1] 宋瀚波，王焕强，李涛，等．硬金属肺病研究现状文献计量分析［J］．工业卫生与职业病，2015，43（6）：738-742.

[2] Ministry of Manpower Occupational Safety and Health Division, Singapore. A semi-quantitative method to assess occupational exposure to harmful chemicals［R］.［2015-12-12］. http：//www. wshc. sg/files/wshc/upload/cms/file/2014/A%20 Semi-quantitative%20 Method %20 to %20 Assess %20 Occupational %20 Exposure %20 to %20 Harmful %20 Che. pdf

[3] 厉小燕．五种职业健康风险评估方法的应用研究［D］．杭州：浙江大学，2014.

[4] 吴智君，徐波，江海，等．三种风险评估模型在二甲基甲酰胺职业健康风险评估中的应用［J］．中华劳动卫生职业病杂志，2016，34（8）：576-580.

[5] 董一文，边洪英，张思雨，等．煤焦油沥青行业职业健康风险评估［J］．中国公共卫生，2016，32（6）：769-773.

[6] 林嗣豪，王治明，唐文娟，等．职业危害风险指数评估方法的初步研究［J］．中华劳动卫生职业病杂志，2006，24（12）：769-771.

[7] GB/T23694—2009，风险管理术语［S］.

（上接第 327 页）

[13] Xu X, Jackson P L, Tanner S, *et al*. A self-propagating matrix metalloprotease-9 (MMP-9) dependent cycle of chronic neutrophilic inflammation［J］. PLoS One, 2011, 6 (1): e15781.

[14] Meng G, Zhao J, Wang H M, *et al*. Cell injuries of the blood-air barrier in acute lung injury caused by perfluoroisobutylene exposure［J］. J Occup Health, 2010, 52 (1): 48-57.

[15] Meng G, Zhao J, Wang H M, *et al*. Injury of cell tight junctions and changes of actin level in acute lung injury caused by the perfluoroisobutylene exposure and the role of Myosin light chain kinase［J］. J Occup Health, 2011, 53 (4): 250-257.

[16] Chakrabarti S, Patel K D. Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and MMP-9 in pulmonary pathology［J］. Exp Lung Res, 2005, 31 (6): 599-621.

[17] Xue H, Sun K, Xie W, *et al*. Etanercept attenuates short-term cigarette-smoke-exposure-induced pulmonary arterial remodelling in rats by suppressing the activation of TNF-α/NF-kB signal and the activities of MMP-2 and MMP-9［J］. Pulm Pharmacol Ther, 2012, 25 (3): 208-215.

[18] 陈平圣，陶冬英．基质金属蛋白酶抑制剂与 ALI/ARDS 防治［J］．现代医药卫生，2006，22（18）：2753-2754.

[19] Onyefuru L C, Upshall D G, Rice P. Effects of furosemide, torasemide and controlled fluid intake on perfluoroisobutene induced lung oedema and mortality［J］. Arzneimittelforschung, 1996, 46 (3): 283-287.

[20] 赵建，丁日高，阮金秀，等．盐酸四环素对全氟异丁烯吸入性肺损伤的防治效果研究［J］．中国职业医学，2005，32（1）：14-17.

[21] 赵建，丁日高，阮金秀，等．四氢吡咯二硫代氨基甲酯联合应用盐酸四环素对抗全氟异丁烯吸入性急性肺损伤［J］．中国工业医学杂志，2007，20（6）：370-372.

[22] 赵建，丁日高，阮金秀，等．化学修饰的四环素对全氟异丁烯吸入性急性肺损伤的防治效果［J］．中国职业医学，2008，35（1）：7-9.

[23] Bittencourt-Mernak M I, Pinheiro N M, Santana F P, *et al*. Prophylactic and therapeutic treatment with the flavonone sakuranetin ameliorates LPS-induced acute lung injury［J］. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2017, 312 (2): L217-L230.

[24] Yeh D Y, Tung S P, Fu Y H, *et al*. Intravenous superoxide dismutase administration reduces contralateral lung injury induced by unilateral lung ischemia and reperfusion in rats through suppression of activity and protein expression of matrix metalloproteases［J］. Transplant Proc, 2015, 47 (4): 1083-1086.

[25] Amado-Rodriguez L, Del Busto C, Garcia-Prieto E, *et al*. Mechanical ventilation in acute respirating distress syrdrome: The open lung revisited［J］. Med Intension, 2017. 41 (2): 71-74.

[26] Guo Y, Ma L, Zhang F, *et al*. Neutrophil elastase ameliorates matrix metalloproteinase-9 to promote lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice 1［J］. Acta Cir Bras, 2016, 31 (6): 382-388.

[27] Roy S K, Kubiak B D, Albert S P, *et al*. Chemically modified tetracycline 3 prevents acute respiratory distress syndrome in a porcine model of sepsis + ischemia/reperfusion-induced lung injury［J］. Shock, 2012, 37 (4): 424-432.