煤工尘肺患者血清 8 项生物标记物的因子分析

袁宝军[1]，邹吉敏[1]，李超[1]，王冬梅[1]，邹翠洁[2]

（1. 开滦总医院检验科，河北 唐山　063000；2. 廊坊卫生职业学院影像教研室，河北 廊坊　065001）

摘要：目的　通过对煤工尘肺（CWP）患者血清中 8 项生物标记物水平测定及因子分析，为探讨 CWP 发生机制提供新的依据。**方法**　采用酶联免疫吸附法检测 116 例 CWP 患者血清中 IL-18、IL-18R、IL-8、sCD40、sCD40L、MCP-1、MMP-9 及 TIMP-9 等 8 项指标水平，采用 SPSS17. 0 软件对其进行因子分析。**结果**　CWP 组与对照组比较，IL-18、IL-18R、IL-8、sCD40L 和 TIMP-9 水平升高，差异均具有统计学意义（$P<0.01$），而 sCD40、MCP-1 和 MMP-9 水平则无明显改变（$P>0.05$）。8 项原始指标信息量提取率最高者为 93. 3%，最低者为 64. 1%；经因子分析提取到 4 个公因子，分别为炎症因子（$F1$）、共刺激分子（$F2$）、基质金属蛋白酶及其组织抑制因子（$F3$）、细胞因子受体（$F4$），其方差贡献率分别为 33. 06%、21. 60%、14. 16%、13. 43%，累计方差贡献率为 82. 25%。**结论**　CWP 患者血清 8 项生物标记物相关因素依次为炎症因子、共刺激分子、基质金属蛋白酶与其组织抑制因子和细胞因子受体等 4 种，因子分析法可能对今后探讨 CWP 发病机制、治疗等起指导作用。

关键词：煤工尘肺（CWP）；生物标记物；因子分析

中图分类号：R135. 2　**文献标识码：**A　**文章编号：**1002-221X(2015)03-0175-04　**DOI:**10.13631/j.cnki.zggyyx.2015.03.004

Factor analysis on eight serum biomarkers in patients with coal worker's pneumoconiosis

YUAN Bao-jun*，ZOU Ji-min，LI Chao，WANG Dong-mei，ZOU Cui-jie

（*. *Department of Clinical Laboratory*，*KaiLuan General Hospital*，*Tangshan* 063000，*China*）

Abstract：Objective　The aim of this study is to analyze eight serum biomarkers by factor analysis technique to offer some new theoretic basis for exploring the pathogenesis of coal worker's pneumoconiosis（CWP）. **Methods**　The ELISA method was used to measure the levels of IL-18，IL-18R，IL-8，sCD40，sCD40L，MCP-1，MMP-9 and TIMP-9 in serum of 116 CWP patients，and SPSS17. 0 software was used for factor analysis. **Results**　The serum levels of IL-18，IL-18R，IL-8，sCD40L and TIMP-9 were significantly higher in CWP compared with control group（all $P<0.01$），while the serum levels of sCD40，MCP-1 and MMP-9 showed no obvious change（all $P>0.05$）. The maximum extraction rate was 93. 3%，the minimum was only 64. 1% in these eight initial components；four comm factors extracted were as follows：inflammatory factors（$F1$），costimulatory molecules（$F2$），matrix metalloproteinase and its tissue inhibitors（$F3$）and cytokine receptors（$F4$），the variance contribution rates were 33. 06%，21. 60%，14. 16% and 13. 43% respectively，cumulative variance contribution rate was 82. 25%. **Conclusion** The study showed that there were four pathogenic routes involving serum biomarkers in CWP：inflammatory factors，costimulatory molecules，matrix metalloproteinase and its tissue inhibitors，cytokine receptors，suggested that factor analysis should be helpful in exploration on the pathogenesis and treatment of CWP.

Key words：coal worker's pneumoconiosis（CWP）；biomarker；factor analysis

研究证实，确定一些合适的生物标记物对煤工尘肺（coal worker's pneumoconiosis，CWP）患者职业暴露、作用效果及易感性等方面的早期预测尤为重要[1]。CWP 的发生与肺泡巨噬细胞和上皮细胞分泌产生的促炎症细胞因子和趋化因子有关[2]。我们的研究也发现，检测血清中此类生物标记物可反映 CWP 患者肺功能改变及疾病严重程度[3]，以前，我们对 CWP 患者血清中部分生物标记物变化及意义分别做过一些探讨[4~8]，其研究方法均是基于单个或部分标记物与临床资料的比较分析，方法简单易行，客观、真实性强，但其联合作用在 CWP 发生中的作用却未能考虑。因子分析作为一种多元统计分析技术，是通过研究多个变量间的内部相互依赖关系，寻找具有相关关系的多个变量间是否存在不能直接观察到的，但对可观测变量的变化起支配作用的潜在因素的分析方法。我们对 116 例 CWP 患者血清 8 项标志物 IL-18、IL-18R、IL-8、sCD40、sCD40L、MCP-1、MMP-9 和 TIMP-9 水平检测并进行因子分析，探寻在 CWP 发生发展过程中起支配作用的生物因素，现将结果报告如下。

收稿日期：2014-08-05；**修回日期：**2014-10-12

作者简介：袁宝军（1966—），男，医学硕士，主任技师，教授，主要从事临床免疫学实验诊断及相关研究。

1　对象和方法

1.1　对象

以 2008—2010 年在开滦职业病防治院查体的在职和退休工人为研究对象。（1）CWP 组：选取经开滦职业病防治院按照《尘肺病诊断标准》（GBZ70—2009）确诊的 116 例 CWP 患者（壹期 100 例、贰期 16 例），年龄 45～82 岁、平均（62.29±9.76）岁，接尘时间 10～39 年、平均（27.54±5.72）年；（2）对照组：63 名具有与 CWP 组相同接尘条件的健康井下工人，年龄 52～77 岁、平均（60.80±6.67）岁，接尘时间 8～37 年、平均（27.18±5.01）年。所选对象均为男性，未合并高血压、冠心病和糖尿病，无肝脏、肾脏、自身免疫性疾病及近期肺部感染史，均已签署知情同意书并得到开滦总医院医疗伦理委员会的批准。经统计学分析，两组年龄及接尘时间比较差异均无统计学意义（$P>0.05$）。

1.2　标本采集及实验方法

所有检测对象均采集空腹静脉血，分离血清，置 -20℃冰箱保存，统一测定。各指标均采用酶联免疫吸附法，所用仪器为美国 Stat Fax-2100 酶标仪，检测试剂购自美国 R&B 公司，严格依照说明书操作。选择 IL-18（$X1$）、IL-18R（$X2$）、IL-8（$X3$）、sCD40（$X4$）、sCD40L（$X5$）、MCP-1（$X6$）、MMP-9（$X7$）和 TIMP-9（$X8$）8 项指标，建立数据库。

1.3　统计学分析

应用 SPSS17.0 软件进行统计分析。计量资料进行正态性检验，符合正态分布的计量资料以均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，两均数比较采用 t 检验；偏态分布的计量资料以中位数（M）和四分位数间距（P25，P75）表示，两组间的比较采用 Mann-Whitney U 检验，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。拟提取的各因子累计方差贡献率≥80%为满意，采用最大方差正交旋转法提取，并根据正交旋转后因子载荷绝对值大小与专业知识解释公因子。

2　结果

2.1　CWP 组与对照组 8 项血清生物标志物水平变化

CWP 组与对照组比较，IL-18、IL-18R、IL-8、sCD40L 和 TIMP-9 水平均升高，差异均具有统计学意义（$P<0.01$），而 MCP-1 和 sCD40 水平的升高以及 MMP-9 水平的降低，差异均无统计学意义（$P>0.05$）。见表 1。

表 1　两组血清生物标志物水平变化

组别	例数	IL-18（pg/ml）		IL-18R（ng/ml）		IL-8（pg/ml）		MCP-1（pg/ml）	
		M	P25，P75	M	P25，P75	M	P25，P75	M	P25，P75
CWP 组	116	279.79▲	122.38，562.50	2.00▲	1.60，2.90	18.68▲	11.24，36.62	281.95	160.28，785.29
对照组	63	195.07	75.68，340.33	1.50	1.20，1.73	11.09	7.92，17.7	272.30	126.90，428.60
Z 值		-2.634		-4.461		-3.570		-1.885	
P 值		0.008		0.000		0.000		0.059	

组别	例数	sCD40（pg/ml）		sCD40L（ng/ml）		MMP-9（ng/ml）		TIMP-9（ng/ml）	
		M	P25，P75	M	P25，P75	M	P25，P75	M	P25，P75
CWP 组	116	279.00	201.90，475.73	7.50▲	5.43，9.58	16.25	5.94，26.89	320.00▲	250.00，380.00
对照组	63	242.80	181.80，354.70	5.40	4.30，7.60	24.93	12.92，55.28	270.00	230.00，320.00
Z 值		-1.918		-3.352		-2.786		-3.862	
P 值		0.055		0.001		0.005		0.000	

注：与对照组比较，▲$P<0.01$。

2.2　CWP 患者 8 项血清生物标记物因子分析的适应性检验

KMO 和 Bartlett 检验结果显示，Bartlett 球形度检验卡方近似值为 216.71，P 为 0.000（$P<0.01$），说明这些生物标记物各个指标之间具有较强相关关系；KMO 测定值为 0.602，根据统计学家 Kaiser 给出的标准，一般认为 KMO 值大于 0.6 时，适合作因子分析[9]。

2.3　原始指标信息提取量

本文原始指标 $X1$～$X8$ 的信息提取量依次为原始指标信息的 87.7%、93.3%、82.0%、79.0%、64.1%、87.4%、85.5%、78.9%。大多数指标的变量共同度接近或超过 80%，其信息损失量最大的 sCD40L（$X5$）的信息提取量也达到了 64.1%。

2.4　公因子及其方差贡献

根据方差结果，特征根值大于 0.9 的公因子共有 4 个，累计贡献率近 82.25%。见表 2。

表 2　各公因子特征根及方差贡献率

因子	原始特征值			提取载荷平方和			旋转载荷平方和		
	特征根	方差贡献率（%）	累计贡献率（%）	特征根	方差贡献率（%）	累计贡献率（%）	特征根	方差贡献率（%）	累计贡献率（%）
*F*1	2. 644	33. 056	33. 056	2. 644	33. 056	33. 056	2. 488	31. 100	31. 100
*F*2	1. 728	21. 602	54. 658	1. 728	21. 602	54. 658	1. 792	22. 399	53. 499
*F*3	1. 133	14. 164	68. 821	1. 133	14. 164	68. 821	1. 207	15. 093	68. 591
*F*4	1. 074	13. 427	82. 249	1. 074	13. 427	82. 249	1. 093	13. 657	82. 249
*F*5	0. 559	6. 982	89. 230						
*F*6	0. 482	6. 023	95. 253						
*F*7	0. 222	2. 775	98. 028						
*F*8	0. 158	1. 972	100. 000						

2. 5　旋转后因子载荷矩阵

经最大方差正交旋转后的因子载荷结果显示，IL-18（*X*1）、IL-8（*X*3）和 MCP-1（*X*6）在第 1 个因子 *F*1 有较大载荷，载荷量分别为 0. 882、0. 811、0. 918，即与 *F*1 相关系数较高；sCD40（*X*4）和 sCD40L（*X*5）在第 2 个因子 *F*2 上有较大载荷，载荷量分别为 0. 748、0. 731；MMP-9（*X*7）和 TIMP-9（*X*8）在第 3 个因子 *F*3 上有较大载荷，载荷量分别为 0. 805、0. 487；IL-18R（*X*2）在第 4 个公因子 *F*4 上有较大载荷，载荷量为 0. 868。

2. 6　成分得分的协方差矩阵

协方差矩阵结果显示，*F*1、*F*2、*F*3 和 *F*4 不同公因子之间的相关系数均为 0. 000，证实公因子之间不相关。

3　讨论

煤尘和/或矽尘刺激肺泡巨噬细胞和上皮细胞释放活化介质，诱导中性粒细胞和巨噬细胞募集，导致促炎症细胞因子和趋化因子产生进而引起肺损伤和肺部瘢痕，这是 CWP 发生的机制之一[2]。探讨血清标记物在 CWP 可能发生机制中作用意义重大。寻找和确立更多生物标记物，并用于评估探讨 CWP 病原学机制非常必要。国外研究已证实，IL-8 等一些生物标记物可用于 CWP 发生的预测和早期筛查的检测指标[1]。本研究从血清生物标记物方面，在以往研究的基础上选择有意义的 IL-18、IL-18R、IL-8、sCD40、sCD40L、MCP-1、MMP-9 和 TIMP-9 等 8 项指标进行研究。结果表明，CWP 患者血清中 IL-18、IL-18R 等 8 项指标异常，表明血清 8 项生物标记物参与了 CWP 发生发展，与国内外研究一致[4~8,10~12]。

因子分析是通过对变量之间关系的研究，找出能综合原始变量的少数几个因子，使得少数因子能够反映原始变量的绝大部分信息，然后根据相关性的大小将原始变量分组，使得组内的变量之间相关性较高，而不同组的变量之间相关性较低。其目的就是要减少变量的个数，用少数因子代表多个原始变量去分析整个问题。本研究对 CWP 患者血清 8 项生物标志物进行因子分析，得到 4 个公因子，共解释原始指标接近 82. 25%的信息量，较好地反映原始各指标变量的大部分信息，可以代替原来 8 个变量对 CWP 发生发展现状进行衡量。

通过方差极大法进行因子旋转，结果显示，*X*1（IL-18）、*X*3（IL-8）和 *X*6（MCP-1）与第 1 个公因子（*F*1）载荷系数较大，即第 1 个因子主要解释了 IL-18、IL-8 和 MCP-1 变量的作用，IL-18 是一种强有力的致炎细胞因子，可诱导 IL-8、MCP-1 和黏附分子 ICAM-1、VCAM 的表达，吸引、黏附、激活中性粒细胞、单核细胞及淋巴细胞等，引起炎症反应[13]，从专业角度解释，我们将因子 1 命名为炎症因子，提示暴露煤尘或矽尘后，炎症因子的产生与持续存在引起的急慢性肺部炎症在 CWP 发生发展中起主要作用。结果还显示，*X*4（sCD40）和 *X*5（sCD40L）在第 2 个公因子（*F*2）上有较大载荷，CD40/CD40L 作为一共刺激分子通路，在 T 淋巴细胞依赖的 B 淋巴细胞应答过程中，以及内皮细胞与浸润白细胞结合过程中尤为关键，炎症时 CD40 可迅速绑定其配体 CD40L，表达在 T 细胞及其他非免疫细胞表面发挥作用[14]。根据专业将第 2 个公因子解释为共刺激分子，该结果进一步证实细胞间协同刺激信号参与了 CWP 病理生理。*X*7（MMP-9）和 *X*8（TIMP-9）与第 3 个公因子（*F*3）的载荷系数较大，细胞外基质（ECM）是组成间质和上皮血管中基质的不溶性结构成分，主要有胶原蛋白、弹性蛋白、蛋白多糖和糖蛋白等，生理状态下 ECM 的产生和降解保持动态平衡，MMPs 不仅可降解 ECM 中的多种蛋白成分，同时也能调节巨噬细胞外渗、迁移，并参与组织重塑。而金属蛋白酶组织抑制因子（TIMPs）是 MMPs 的特异性抑制

剂，与 MMPs 结合使其失活，直接参与 ECM 代谢平衡[15]，故 MMPs 及 TIMPs 在调节 ECM 生理稳态方面起重要作用，根据专业知识我们把第 3 个公因子命名为基质金属蛋白酶与其组织抑制因子，结果表明，MMPs 与 TIMPs 失衡使 ECM 产生增多或降解减少，导致肺组织内 ECM 堆积，是 CWP 肺纤维化的病理基础之一。此外，*X*2（IL-18R）在第 4 个因子（*F*4）上载荷较大，IL-18R 具有信号传导能力和特定途径，通过与 IL-18 结合成受体复合物，诱导 Th1 细胞产生细胞因子及 T 细胞和 NK 细胞增殖，参与并发挥多种免疫调节功能[16]，根据专业知识我们把第 4 个公因子命名为细胞因子受体，当粉尘暴露后，随炎症细胞募集，引发一系列免疫反应并产生大量细胞因子，细胞因子通过与其相应受体结合，将信号传递到细胞内部，发挥其多样的生物学功能，提示细胞因子受体也是 CWP 发病的关键环节之一。

通过本次对 CWP 患者血清 8 项生物标志物的因子分析认为，CWP 的发生可能主要涉及炎症因子、共刺激因子、基质金属蛋白酶及其组织抑制因子、细胞因子受体，而炎症反应则可能是 CWP 发生的主要原因。Huaux[17]在对矽肺研究中也认为，矽肺特征的形成是因巨噬细胞、中性粒细胞、肥大细胞以及 B 淋巴细胞释放的前炎症因子参与形成细胞基质蛋白的大量沉积和持续存在的细胞坏死所致，炎症是引起矽肺主要的发病机制。

因子分析为确定不同生物标记物在 CWP 发生中的主次关系提供了定量分析手段，但本研究只涉及了部分生物标记物，其结果解释也只针对研究中的 8 个指标，更多、更广的要素及结果解释有待今后进一步扩大指标数量，以进一步完善对 CWP 发生发展机制的探讨。

参考文献：

[1] Gulumain M, Borm P J, Vallyathan V, *et al*. Mechanistically identified suitable biomarkers of exposure, effect and susceptibility for silicosis and coal-worker's pneumoconiosis: A comprehensive review [J]. Journal of Toxicology and Environmental Health, 2006, 9 (5): 357-395.

[2] Castranova V, Vallyathan V. Silicosis and coal worker's pneumoconiosis [J]. Environ Health Perspect, 2000, 108 (4): 675-684.

[3] Zou J M, du Prel Carroll X, Liang X H, *et al*. Alterations of serum biomarkers associated with lung ventilation function impairment in coal workers: A cross-sectional study [J]. Environmental Health, 2011, 10 (1): 83-90.

[4] 王冬梅，袁宝军，邹吉敏，等. 煤工尘肺患者血清中白细胞介素 18 及其受体的变化和意义 [J]. 中国职业医学，2009，36 (3): 196-198.

[5] 王冬梅，袁宝军，李超，等. 煤工尘肺患者血清可溶性 CD40 及其配体水平变化研究 [J]. 中国职业医学，2010，37 (2): 140-142.

[6] 吴俊艳，袁宝军，邹吉敏，等. 单核细胞趋化蛋白-1 与白细胞介素-1β 在煤工尘肺患者血清中的变化 [J]. 中国职业医学，2010，37 (2): 135-136.

[7] 邹吉敏，袁宝军，王冬梅，等. 煤工尘肺患者血清中基质金属蛋白酶-9 及其抑制因子水平变化 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志，2010，28 (1): 21-24.

[8] 吴寿岭，张玉梅，杨俊芬，等. 煤工尘肺患者血清白细胞介素-8、-13 和-18 水平的变化 [J]. 中国职业医学，2010，37 (5): 389-392.

[9] 张林泉. 基于因子分析的应用研究 [J]. 哈尔滨师范大学自然科学学报，2009，25 (5): 60-63.

[10] Kitasato Y, Hoshino T, Okamoto M, *et al*. Enhanced expression of interleukin-18 and its receptor in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2004, 31 (6): 619-625.

[11] Stijn W, Verleden S E, Vanaudenaerde B M, *et al*. Multiplex protein profiling of bronchoalveolar lavage in idiopathic pulmonary fibrosis and hypersensitivity pneumonitis [J]. Ann Thorac Med, 2013, 8 (1): 38-45.

[12] Kaufman J, Sime P J, Phipps R P, *et al*. Express ion of CD154 (CD40ligand) by human lung fibroblasts: differential regulation by IFN-gamma and IL-13, and implications for fibrosis [J]. J Immunol, 2004, 172 (3): 1862-1871.

[13] Dinarello C A. Interleukin-18, a proinflammatory cytokine [J]. Eur Cytokine Netw, 2000, 11 (3): 483-486.

[14] Elgueta R, Benson M J, de Vries V C, *et al*. Molecular mechanism and function of CD40/CD40L engagement in the immune system [J]. Immunological Reviews, 2009, 229 (1): 152-172.

[15] Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metallopmteinases and TIMPs [J]. Cardiovase Res, 2006, 69 (3): 562-573.

[16] Tomura M, Zhou X Y, Maruo S, *et al*. A critical role for IL-18 in the proliferation and activation of NK1.1$^+$ CD3$^-$ cells [J]. J Immunol, 1998, 160 (10): 4738-4746.

[17] Huaux F. New developments in the understanding of immunology in silicosis [J]. Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology, 2007, 7 (2): 168-173.