

• 论 著 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2018. 02. 005

PIVKA-Ⅱ、AFP、AFP-L3 联合检测在肝细胞肝癌诊断中的价值^{*}

孙雯雯,王秀芹,司元全,刘玲玲[△]

(山东大学附属省立医院临床医学检验部,济南 250021)

摘 要:目的 探讨血清异常凝血酶原(PIVKA-Ⅱ)、血清甲胎蛋白(AFP)、甲胎蛋白异质体(AFP-L3)检测在肝细胞肝癌(HCC)诊断中的临床应用价值。方法 选择 2016 年 6—11 月在山东大学附属省立医院中心院区住院的 92 例 HCC 患者为 HCC 组,64 例肝硬化患者为肝硬化组,72 例乙型肝炎患者为肝炎组,另选取 70 例健康人作为健康对照组,检测所有研究对象 PIVKA-Ⅱ、AFP、AFP-L3 水平并比较分析。结果 HCC 组血清 PIVKA-Ⅱ、AFP、AFP-L3 水平明显高于肝硬化组、肝炎组和健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。HCC 组 PIVKA-Ⅱ、AFP、AFP-L3 的受试者工作特征曲线下面积分别为 0.904、0.867、0.840。单项检测中,PIVKA-Ⅱ 的灵敏度和准确度最高,为 82.61% 和 87.92%;AFP-L3 特异度最高,为 93.20%。联合检测中,PIVKA-Ⅱ+AFP-L3 以及 PIVKA-Ⅱ+AFP+AFP-L3 组合的特异度最高,为 98.54%;PIVKA-Ⅱ/AFP/AFP-L3 组合的灵敏度最高,为 94.57%。结论 PIVKA-Ⅱ、AFP、AFP-L3 联合检测可以提高 HCC 的诊断效能,弥补单项检测的不足。

关键词:异常凝血酶原; 甲胎蛋白; 甲胎蛋白异质体; 肝细胞肝癌

中图法分类号:R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2018)02-0161-04

The value of serum PIVKA-Ⅱ, AFP and AFP-L3 in the diagnosis of hepatocellular carcinoma^{*}

SUN Wenwen, WANG Xiuqin, SI Yuanquan, LIU Lingling[△]

(Department of Laboratory, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan, Shandong 250021, China)

Abstract: **Objective** To explore the clinical application values of protein induced by vitamin K absence or antagonist-Ⅱ (PIVKA-Ⅱ), Alpha fetoprotein (AFP), Alpha fetoprotein variants (AFP-L3) detection in the diagnosis of hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** From June of 2016 to November of 2016, 92 cases of HCC patients who presented at Shandong Province Hospital as HCC group; 64 cases of cirrhotic patients as liver cirrhosis group; 72 cases of chronic hepatitis patients as chronic hepatitis group and 70 healthy people as healthy control group. PIVKA-Ⅱ, AFP and AFP-L3 were measured by commercial assay kits. **Results** The serum levels of PIVKA-Ⅱ, AFP and AFP-L3 in HCC group were significantly higher than those in liver cirrhosis group, chronic hepatitis group and healthy control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The area under the ROC curve of PIVKA-Ⅱ, AFP and AFP-L3 were 0.904, 0.867 and 0.840, respectively. Sensitivity and accuracy of PIVKA-Ⅱ in individual inspection were the highest, 82.61% and 87.92%, respectively. Specificity of AFP-L3 was the highest, 93.20%. The specificity of PIVKA-Ⅱ+AFP-L3 and PIVKA-Ⅱ+AFP+AFP-L3 combination were the highest, 98.54%; the sensitivity of PIVKA-Ⅱ/AFP/AFP-L3 combination was the highest, 94.57%. **Conclusion** The allied combination of serum PIVKA-Ⅱ, AFP and AFP-L3 makes up for the insufficient clinical applications of individual serum markers. It is of great clinical significance to improve the diagnosis of HCC.

Key words: protein induced by vitamin K absence or antagonist-Ⅱ; alpha fetoprotein; alpha fetoprotein variants; hepatocellular carcinoma

肝细胞肝癌(HCC)是目前临床常见的恶性肿瘤之一,世界常见肿瘤中其发病率位居第 5 位,病死率位居第 3 位^[1]。由于肝癌的预后极差,所以早期诊断和预防就显得尤为重要。除影像学、病理学检查外,

血清肿瘤标志物检测是 HCC 早发现、早诊断的重要手段。血清甲胎蛋白(AFP)是自 20 世纪 70 年代就开始使用的肝癌标志物,也是目前肝癌最常用的肿瘤标志物^[2]。然而,小肝癌的 AFP 水平较低,慢性肝炎

^{*} 基金项目:山东省临床重点专科建设项目经费资助项目(201326)。

作者简介:孙雯雯,女,主管技师,主要从事临床基础方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail: sdlingll2015@163.com。

或者肝硬化患者的 AFP 也可升高,这使 AFP 处于一个尴尬的位置^[3]。随着检验技术的不断进步,多种可作为 AFP 补充检测的标志物不断应用于临床。异常凝血酶原(PIVKA-II)是维生素 K 缺乏或拮抗剂-II 诱导的蛋白质,LIEBMAN 等^[4]在 1984 年首次报道约 90% 的 HCC 患者 PIVKA-II 会升高。甲胎蛋白异质体(AFP-L3)也被提出可作为肝癌的肿瘤标志物,有报道称,AFP-L3 比 AFP 更能代表肝癌的恶性潜能^[5]。由于检测方法的限制,国内在 PIVKA-II 方面的研究较少。本研究旨在探讨 AFP、AFP-L3、PIVKA-II 单项及联合检测在 HCC 患者中的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2016 年 6—11 月在山东省大学附属立医院中心院区住院的 92 例 HCC 患者为 HCC 组,其中男 64 例、女 28 例,年龄 39~78 岁,中位年龄 58 岁,诊断符合原卫生部《原发性肝癌诊断规范(2011 版)》诊断标准。选择同期就诊的肝硬化患者 64 例作为肝硬化组,其中男 42 例、女 22 例,年龄 35~63 岁,中位年龄 52 岁;乙型肝炎患者 72 例作为肝炎组,其中男 50 例、女 22 例,年龄 30~65 岁,中位年龄 45 岁,诊断符合 2010 年中华医学会肝病学分会、感染分会制订的《病毒性肝炎防治指南》中关于病毒性肝炎的诊断标准。另选择 2016 年 6—10 月在山东省大学附属立医院中心院区体检的 70 例健康人作为健康对照组,其中男 50 例、女 20 例,年龄 32~65 岁,中位年龄 51 岁。4 组研究对象性别、年龄比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 仪器与试剂 使用仪器为罗氏 601 电化学发光仪、雅培 C8000 生化仪。PIVKA-II 检测试剂盒(化学发光法)购自日本富士瑞必欧株式会社,AFP-L3 分离纯化试剂盒购自北京热景生物技术有限公司,AFP 测

定试剂盒购自上海罗氏诊断产品有限公司。PIVKA-II、AFP、AFP-L3 按试剂盒中说明书操作。

1.3 方法 检测所有研究对象 PIVKA-II、AFP、AFP-L3 水平。PIVKA-II 采用电化学发光法检测,按说明书操作。罗氏 601 电化学发光仪测定总 AFP 水平和分离洗脱液中 AFP-L3 水平,计算 AFP-L3%,即 AFP-L3 占总 AFP 的比例。所有研究对象入院后均在清晨空腹采集静脉血 3 mL,促凝管采集,500×g 离心 5 min,留取血清至另一清洁 EP 管内,放置-80℃冰箱内保存,然后分别进行血清 PIVKA-II、AFP、AFP-L3 单项及联合检测。

1.4 统计学处理 采用统计学软件 SPSS19.0 对研究数据进行分析。计数资料以率或例数表示,组间比较采用 χ^2 检验;计量资料不满足正态分布,以 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表示,组间比较采用秩和检验;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。分析 PIVKA-II、AFP、AFP-L3 在 HCC 患者诊断中的灵敏度、准确度和特异度,并绘制受试者工作特征(ROC)曲线,曲线下面积比较应用 z 检验。灵敏度=真阳性数/筛检人数×100%;特异度=真阴性数/筛检人数×100%;准确度=(真阳性数+真阴性数)/筛检人数×100%。

2 结果

2.1 各组血清 PIVKA-II、AFP、AFP-L3 水平测定结果 见表 1。由表 1 可知,HCC 组血清 PIVKA-II、AFP、AFP-L3 水平均最高,中位数分别为 538.50 mAU/mL、213.70 ng/mL、11.77%,HCC 组与健康对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。肝硬化组、肝炎组的 PIVKA-II、AFP、AFP-L3 水平与健康对照组两两比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 各组血清 PIVKA-II、AFP、AFP-L3 检测结果比较[M(P₂₅~P₇₅)]

组别	n	PIVKA-II (mAU/mL)	AFP(ng/mL)	AFP-L3(%)
HCC 组	92	538.50(12.00~75 000.00)*	213.70(1.65~4 214.00)*	11.77(1.84~62.00)
肝硬化组	64	18.60(9.00~154.00)	3.89(0.95~774.40)	3.22(1.10~14.10)
肝炎组	72	21.00(8.00~378.00)	4.32(1.23~365.70)	4.42(1.45~67.00)
健康对照组	70	19.00(13.00~60.00)	3.78(1.23~14.30)	3.52(1.50~7.40)

注:与健康对照组比较,* $P<0.05$

表 2 血清 PIVKA-II、AFP、AFP-L3 鉴别诊断肝癌的 ROC 曲线分析

变量	曲线下面积	灵敏度(%)	P	面积的 95%CI		临界值
				下限	上限	
PIVKA-II	0.904	3.4	<0.01	0.838	0.969	32.5 mAU/mL
AFP	0.867	3.3	<0.01	0.802	0.933	16.18 ng/mL
AFP-L3	0.840	3.7	<0.01	0.767	0.913	7.45%

2.2 ROC 曲线分析 PIVKA-II、AFP、AFP-L3 对

HCC 的诊断价值 采用 ROC 曲线分析 PIVKA-II、AFP、AFP-L3 单独用于鉴别诊断 HCC 和非肝癌的效果,曲线下面积分别为 0.904、0.867 及 0.840。通过 ROC 曲线分析将 PIVKA-II、AFP 及 AFP-L3 鉴别诊断 HCC 的临界值分别设定为 32.5 mAU/mL、16.18 ng/mL 和 7.45%。见表 2 和图 1。

2.3 血清 PIVKA-II、AFP、AFP-L3 单项及联合检测对 HCC 的诊断价值 从表 3 可见,单项检测中,PIVKA-II 的灵敏度和准确度最高,为 82.61%和

87.92%。AFP-L3 特异度最高,为 93.20%。串联试验中,PIVKA-II + AFP 的灵敏度为 60.87%,高于其他组合;PIVKA-II + AFP-L3 以及 PIVKA-II + AFP+AFP-L3 组合的特异度最高,为 98.54%;PIVKA-II + AFP、PIVKA-II + AFP-L3 的准确度最高,均为 86.24%。并联试验中除 AFP/AFP-L3 的灵敏度为 81.52% 以外,其余组合的灵敏度均超过 90.00%;AFP/AFP-L3 特异度最高,为 85.43%,PIVKA-II /AFP-L3 的准确度最高,为 86.91%。

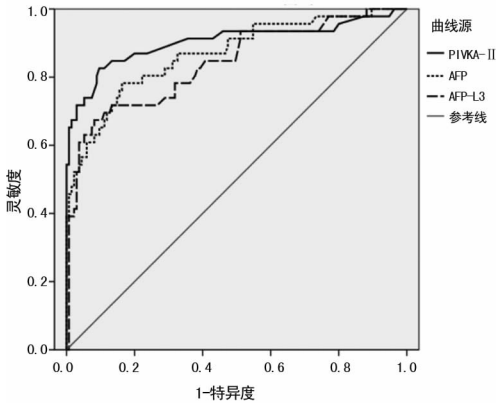


图 1 血清 PIVKA-II、AFP、AFP-L3 鉴别诊断 HCC 的 ROC 曲线

表 3 血清 PIVKA-II、AFP、AFP-L3 单项及联合检测对 HCC 的诊断价值比较

项目组合	灵敏度 [%(n/n)]	特异度 [%(n/n)]	准确度 (%)
PIVKA-II	82.61(76/92)	90.29(186/206)	87.92
AFP	71.74(66/92)	87.86(181/206)	82.89
AFP-L3	67.39(62/92)	93.20(192/206)	85.23
PIVKA-II+AFP	60.87(56/92)	97.57(201/206)	86.24
PIVKA-II+AFP-L3	58.70(54/92)	98.54(203/206)	86.24
AFP+AFP-L3	58.70(54/92)	94.66(195/206)	83.55
PIVKA-II+AFP+AFP-L3	50.00(46/92)	98.54(203/206)	83.55
PIVKA-II/AFP	93.48(86/92)	80.10(165/206)	84.23
PIVKA-II/ AFP-L3	92.39(85/92)	84.95(175/206)	86.91
AFP/AFP-L3	81.52(75/92)	85.43(176/206)	83.89
PIVKA-II/AFP/AFP-L3	94.57(87/92)	78.64(162/206)	83.22

注:项目组合中,+表示串联试验,即同时几个指标阳性则诊断为阳性;/表示并联试验,即任一指标阳性即诊断为阳性

3 讨 论

AFP 是筛查 HCC 的经典指标,但 AFP 的灵敏度和特异度并不高^[6]。美国肝脏病研究学会(AASLD)2011 版指南更新中已不推荐 AFP 用于肝癌的筛查。但是徐伟红等^[7]通过对 84 例 HCC 患者的研究认为,AFP 仍然是诊断 HCC 的重要指标,可作为筛查试验的良好指标。而且近年来 CARR 等^[8]研究发现,那些具有更高 AFP 水平的 HCC 患者,肿瘤更大、胆红素水平更高,是判断肿瘤大小的重要指标。本研究表明,单项检测时 AFP 的灵敏度高于 AFP-L3、低于 PIVKA-II,特异度和准确度都最低,但都在 80.00%

以上;且 AFP 在 ROC 曲线下的面积为 0.867,认为可以作为 HCC 的筛查指标。

血清中的 AFP-L3 主要来源于肝癌细胞,有研究认为其水平会随着肝癌的生长而呈线性升高^[2]。李鲁平等^[9]通过研究 AFP 处于低水平的早期肝癌患者的 AFP-L3 发现,AFP-L3 对肝癌的总灵敏度为 50.00%~60.00%,对直径≥5 cm 的肝癌的灵敏度为 80.00%~90.00%,特异度为 95.00%以上,明显高于总 AFP 测定。有研究发现,41%的 HCC 患者在影像学诊断为肝癌的前几个月就能检测到 AFP-L3 大幅度升高^[10]。本研究也发现,92 例 HCC 患者中 AFP-L3 的特异度可达 93.20%,准确度为 85.23%,高于 AFP。但是 AFP-L3 的灵敏度较低,只有 67.39%,在单项检测中其灵敏度最低。

自从 PIVKA-II 1984 年被首次报道在约 90%的 HCC 患者中会升高后,多项研究认为 PIVKA-II 有助于 HCC 的早期诊断,可以作为 HCC 一项高度特异的标志物^[11]。本研究显示,HCC 患者的 PIVKA-II 明显高于其他非肝癌组,ROC 曲线下面积最大,根据 ROC 曲线确定 PIVKA-II 诊断肝癌的临界值为 32.5 mAU/mL,单项检测中 PIVKA-II 的灵敏度最高,为 82.61%,准确度最高,为 87.92%,特异度也达到了 90.29%,均高于 AFP。

由此可见 AFP、AFP-L3、PIVKA-II 3 种指标各有优点,许多研究发现联合检测 AFP、AFP-L3 和 PIVKA-II 可以提高 HCC 患者早期诊断的灵敏度和特异度^[12-13]。本研究通过 ROC 曲线分析将 PIVKA-II、AFP、AFP-L3 的临界值设为 32.5 mAU/mL、16.18 ng/mL、7.45%,并进一步探讨了上述 3 种指标联合检测对 HCC 的诊断效能。并联试验可提高 HCC 诊断的灵敏度,PIVKA-II /AFP/AFP-L3 的组合将灵敏度提高至 94.57%;串联试验可提高 HCC 诊断的特异度,PIVKA-II + AFP-L3 和 PIVKA-II + AFP+AFP-L3 的组合将特异度提高至 98.54%。

综上所述,AFP 是较好的筛查指标,单项检测中 AFP-L3 的特异度最高,PIVKA-II 的灵敏度最高,而 AFP、AFP-L3、PIVKA-II 三者联合检测可以提高 HCC 的诊断效能,弥补单项检测的不足。

参考文献

[1] WONG R,FRENETTE C. Updates in the management of hepatocellular carcinoma [J]. Gastroenterol Hepatol (NY),2011,7(1):16-24.

[2] 席强,孙桂荣,丛培珊,等. 血清异常凝血酶原和甲胎蛋白联合检测对原发性肝癌的临床价值[J]. 中华检验医学杂志,2014,37(12):928-932.

[3] MARRERO J A,FENG Z,WANG Y,et al. Alpha-fetoprotein,desgamma carboxyprothrombin, and lectin-bound alpha-fetoprotein in early hepatocellular carcinoma[J]. Gastroenterology,2009,137(1):110-118. (下转第 167 页)

脑脊液中 CRP 和 NSE 水平,缓解患者临床症状,且疗效显著。

参考文献

- [1] 汤海燕,谈鹰,张栗. 脑脊液与血浆生化指标比值对结核性脑膜炎与化脓性脑膜炎的鉴别意义[J]. 中国全科医学,2015,18(14):1705-1707.
- [2] 柳兴军,黄玉宝,陈子祥. 腰大池置管持续引流联合鞘内注射给药治疗结核性脑膜炎患者疗效[J]. 中国老年学杂志,2015,35(9):2488-2490.
- [3] VITA S, AJASSA C, CARAFFA E, et al. Immunological diagnosis as an adjunctive tool for an early diagnosis of tuberculous meningitis of an immune competent child in a low tuberculosis endemic country: a case report[J]. BMC Res Notes, 2017, 10(1): 123-127.
- [4] 袁秀丽. 结核性脑膜炎患者血浆和脑脊液中 miRNAs 含量检测及其临床价值评估[J]. 中国现代医学杂志, 2015, 25(31): 22-25.
- [5] 李璐,蒋春明,陈伟富,等. 中枢神经系统感染患儿神经元特异性烯醇化酶与胰岛素样生长因子 I 的表达及临床意义[J]. 中华医院感染学杂志, 2015, 25(23): 5465-5467.
- [6] 甘靖,叶少林,罗蓉,等. 近 10 年国内外儿童结核性脑膜炎研究论文的可视化研究[J]. 中国当代儿科杂志, 2016, 18(5): 415-420.
- [7] 何红彦,殷智晔,李敬,等. 结核性脑膜炎患者中几种病原诊断检测技术的应用[J]. 中国感染与化疗杂志, 2016, 16(3): 336-339.
- [8] BERWAL A, CHAWLA K, VISHWANATH S, et al. Role of multiplex polymerase chain reaction in diagnosing tubercular meningitis[J]. J Lab Physicians, 2017, 9(2): 145-147.
- [9] 彭夏培,李晶,张媚,等. 中枢神经系统感染患者脑脊液中

细胞因子的变化与临床意义[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(15): 3420-3421.

- [10] 张晓蓉,樊安芝. 腰穿鞘内注药治疗结核性脑膜炎患者的疗效观察[J]. 重庆医学, 2016, 45(22): 3161-3162.
- [11] PORMOHAMMAD A, RIAHI S M, NASIRI M J, et al. Diagnostic test accuracy of adenosine deaminase for tuberculous meningitis: A systematic review and meta-analysis[J]. J Infect, 2017, 74(6): 545-554.
- [12] 王燕,刘伟,李斌,等. 化脓性脑膜炎及病毒性脑膜炎患儿血清、脑脊液中蛋白 C 水平变化[J]. 山东医药, 2016, 56(39): 69-71.
- [13] 孙国钧,宋静. 消痰康胶囊辅助脑脊液置换术对结核性脑膜炎的疗效评价[J]. 中国地方病防治杂志, 2016, 31(8): 952.
- [14] LI H, LIU J, ZHAO S. Re: "Linezolid for Children With Tuberculous Meningitis: More Evidence Required" [J]. Pediatr Infect Dis J, 2017, 36(4): 439-440.
- [15] 单小松,丁亚楠,王冀伟,等. 开颅手术后颅内感染患者脑脊液置换联合不同药物鞘内注射治疗的疗效研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2015, 25(12): 2802-2804.
- [16] 肖长水,黄胜芳,李锦红,等. 降钙素原联合 C-反应蛋白对儿童中枢神经系统感染性疾病的临床诊断[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(13): 3089-3091.
- [17] 何万涛,吴雪梅,赵云红,等. 中枢神经系统感染患儿脑脊液及血中白细胞计数、降钙素原、C-反应蛋白变化的相关性研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(18): 4219-4221.
- [18] KONNO S, IMAMURA T, INOUE M, et al. Severe ileus and urinary retention in a patient with tuberculous meningitis[J]. Clin Case Rep, 2017, 5(3): 290-295.

(收稿日期:2017-06-07 修回日期:2017-09-05)

(上接第 163 页)

- [4] LIEBMAN H A, FURIE B C, TONG M J, et al. Des-gamma-carboxy (abnormal) prothrombin as a serum marker of primary hepatocellular carcinoma[J]. N Engl J Med, 1984, 310(22): 1427-1431.
- [5] MATSUDA M, ASAKAWA M, AMEMIYA H, et al. Lens culinaris agglutinin-reactive fraction of AFP is a useful prognostic biomarker for survival after repeat hepatic resection for HCC[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2011, 26(4): 731-738.
- [6] 房萌,高春芳. 肝细胞癌诊断标志研究与临床应用新进展[J]. 中华检验医学杂志, 2013, 36(3): 212-216.
- [7] 徐伟红,姚怡婷,曹华,等. 血清 GP73, AFP-L3, AFP 及 AFUA 检测在原发性肝癌诊断中的应用评价[J]. 中华检验医学杂志, 2016, 39(4): 262-266.
- [8] CARR B I, GUERRA V, GIANNINI E G, et al. Significance of platelet and AFP levels and liver function parameters for HCC size and survival[J]. Int J Biol Markers, 2014, 29(3): 215-223.
- [9] 李鲁平,谷海峰,陈霖,等. 甲胎蛋白异质体 L3 对低浓度甲胎蛋白肝癌诊断的临床意义[J]. 中华实验和临床病毒

学杂志, 2013, 27(6): 452-454.

- [10] BA M C, LONG H, TANG Y Q, et al. GP73 expression and its significance in the diagnosis of hepatocellular carcinoma: a review[J]. Int Clin Exp Pathol, 2012, 5(9): 874-881.
- [11] POTE N, CAUCHY F, ALBUQUERQUE M, et al. Performance of PIVKA- II for early hepatocellular carcinoma diagnosis and prediction of microvascular invasion[J]. J Hepatol, 2015, 62(4): 848-854.
- [12] HADZIYANNIS E, SIALEVRIS K, GEORGIOU A, et al. Analysis of serum alphafetoprotein-L3% and des-gamma carboxyprothrombin markers in cases with misleading hepatocellular carcinoma total alpha-fetoprotein levels[J]. Oncol Rep, 2013, 29(2): 835-839.
- [13] LIM T S, KIM DO Y, HAN K H, et al. Combined use of AFP, PIVKA- II, and AFP-L3 as tumor markers enhances diagnostic accuracy for hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients[J]. Scand J Gastroenterol, 2016, 51(3): 344-353.

(收稿日期:2017-07-25 修回日期:2017-10-04)