

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.14.006

## PIVKA-Ⅱ联合 AFP 检测在早期肝细胞癌诊断中的应用\*

程霞, 马润<sup>△</sup>, 王卓, 番寿蕊, 仁赵玲

昆明医科大学第二附属医院检验科, 云南昆明 650101

**摘要:**目的 探讨维生素 K 缺乏或拮抗剂Ⅱ诱导蛋白质(PIVKA-Ⅱ)联合甲胎蛋白(AFP)检测在早期肝细胞癌(HCC)诊断中的应用价值。方法 选取 38 例早期 HCC 患者、86 例中晚期 HCC 患者、41 例乙型肝炎相关肝硬化患者、30 例健康体检者分别纳入早期 HCC 组、中晚期 HCC 组、肝硬化组、健康对照组。比较 4 组研究对象血清 PIVKA-Ⅱ、AFP 水平,并分析 PIVKA-Ⅱ、AFP 单独及联合检测在 HCC 中的诊断效能,设定适合该地区 HCC 人群的血清 PIVKA-Ⅱ cut-off 值,分析血清 PIVKA-Ⅱ、AFP 水平与 HCC 患者肝脏肿瘤最大径间的关系。结果 早期 HCC 组与中晚期 HCC 组的血清 PIVKA-Ⅱ、AFP 水平均明显高于肝硬化组、健康对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );中晚期 HCC 组的血清 PIVKA-Ⅱ、AFP 水平均明显高于早期 HCC 组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。血清 PIVKA-Ⅱ、AFP 水平与 HCC 患者的肝脏肿瘤最大径均呈正相关( $r = 0.433$ ,  $P = 0.001$ ;  $r = 0.375$ ,  $P = 0.001$ )。血清 PIVKA-Ⅱ联合 AFP 检测诊断 HCC 的灵敏度、阳性预测值、阴性预测值均明显高于 PIVKA-Ⅱ和 AFP 单项检测,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 HCC 患者的血清 PIVKA-Ⅱ、AFP 水平均明显升高,其表达与肝脏肿瘤最大径关系密切,血清 PIVKA-Ⅱ、AFP 联合检测可对早期 HCC 进行较为灵敏、准确的诊断,具有良好的辅助诊断价值。

**关键词:**肝细胞癌; 巴塞罗那分期; 维生素 K 缺乏或拮抗剂Ⅱ诱导蛋白质; 甲胎蛋白

中图法分类号:R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)14-1895-04

## Application of PIVKA-Ⅱ combined with AFP in the diagnosis of early hepatocellular carcinoma\*

CHENG Xia, MA Run<sup>△</sup>, WANG Zhuo, FAN Shourui, REN Zhaoling

Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming, Yunnan 650101, China

**Abstract: Objective** To investigate the application value of abnormal prothrombin Ⅱ induced by vitamin K deficiency (PIVKA-Ⅱ) combined with alpha fetoprotein (AFP) detection in the diagnosis of early hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** A total of 38 patients with early HCC, 86 patients with intermediate and advanced HCC, 41 patients with hepatitis B virus-associated cirrhosis and 30 healthy subjects were enrolled into the early HCC group, intermediate and advanced HCC group, cirrhosis group and healthy control group respectively. Serum PIVKA-Ⅱ and AFP levels were compared among the 4 groups, and the diagnostic efficacy of PIVKA-Ⅱ and AFP alone and in combination for HCC was analyzed. Cut-off value of serum PIVKA-Ⅱ was established for HCC population in this region, and the correlations between PIVKA-Ⅱ and AFP levels and maximum diameter of tumor were analyzed. **Results** Serum PIVKA-Ⅱ and AFP levels in early HCC group and intermediate advanced HCC group were significantly higher than those in cirrhosis group and healthy control group, the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Serum PIVKA-Ⅱ and AFP levels in intermediate advanced HCC group were significantly higher than those in early HCC group, the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Serum PIVKA-Ⅱ and AFP levels correlated positively with the maximum diameter of tumor in HCC patients ( $r = 0.433$ ,  $P = 0.001$ ;  $r = 0.375$ ,  $P = 0.001$ ). The diagnostic sensitivity, positive predictive value and negative predictive value of PIVKA-Ⅱ combined with AFP were significantly higher than those of PIVKA-Ⅱ and AFP alone, the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The serum levels of PIVKA-Ⅱ and AFP in HCC patients increase significantly and their expressions relate closely to maximum diameter of tumor. The combined detection of serum PIVKA-Ⅱ and AFP could be more sensitive and accurate in diagnosis of early HCC, which has good auxiliary diagnostic value.

**Key words:** hepatocellular carcinoma; Barcelona stage; abnormal prothrombin Ⅱ induced by vitamin K deficiency; alpha fetoprotein

\* 基金项目:云南省教育厅科学研究基金项目(2019J1259);昆明医科大学第二附属医院内科技计划资助项目(2019yk018)。

作者简介:程霞,女,主管技师,主要从事临床生物化学实验室诊断研究。△ 通信作者, E-mail:467161115@qq.com。

肝细胞癌(HCC)是全世界原发性肝癌中的主要组织学类型,其发病率在我国恶性肿瘤中居于前列,患者具有较高的死亡风险。在临床上对 HCC 高危人群的筛查有助于早期发现、早期诊断、早期治疗,这是提高 HCC 疗效的关键。如果能在早期及时发现 HCC,就可以通过切除、肝移植或射频局部消融进行治疗,从而降低 HCC 患者的病死率<sup>[1]</sup>。因此,提高 HCC 的早期诊断率对其预后至关重要。我国《原发性肝癌诊疗规范(2017 年版)》<sup>[2]</sup>推荐血清甲胎蛋白(AFP)和肝脏超声检查作为 HCC 早期筛查的主要手段,建议高危人群每隔 6 个月至少进行一次检查。AFP 目前是 HCC 应用最广泛的肿瘤诊断标志物,但该指标在早期 HCC 筛查应用中存在一定的缺陷,如约 30% 的确诊 HCC 患者 AFP 水平并无明显升高,而在一些非 HCC 患者中却有 AFP 水平升高<sup>[3]</sup>。由于 AFP 在 HCC 的筛查和诊断中存在特异度低的问题,学者们一直在寻找新的 HCC 特异性标志物。近年来,维生素 K 缺乏或拮抗剂 II 诱导蛋白质(PIVKA-II)在 HCC 诊断中备受关注,其在 AFP 阴性的 HCC 患者中也会升高,有较高的特异度与灵敏度<sup>[4]</sup>,有研究表明,PIVKA-II 在乙型肝炎相关 HCC 中阳性率更高<sup>[5]</sup>。有研究报道,AFP、PIVKA-II 的产生及其表达量是相对独立的,在 HCC 中二者无相关性<sup>[6]</sup>,理论上可将二者联用以提高 HCC 诊断的灵敏度。本研究拟探讨血清 PIVKA-II、AFP 及二者联合检测在早期 HCC 诊断中的应用价值,以及 PIVKA-II、AFP 与 HCC 患者肝脏肿瘤最大径的相关性。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集 2019 年 1 月至 2021 年 5 月昆明医科大学第二附属医院 38 例早期 HCC 患者、86 例中晚期 HCC 患者、41 例乙型肝炎相关肝硬化患者、30 例健康体检者为研究对象,分别纳入早期 HCC 组、中晚期 HCC 组、肝硬化组、健康对照组。HCC 诊断依据《原发性肝癌诊疗规范(2017 年版)》相关标准进行。HCC 患者分期根据巴塞罗那临床分期(BCLC)进行,BCLC-0/A HCC 患者为早期 HCC 组,BCLC-B/C HCC 患者为中晚期 HCC 组。乙型肝炎相关肝硬化诊断依据为《2015 日本胃肠病学会循证临

床实践指南:肝硬化》,影像学检查提示肝硬化,血清乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)阳性,肝功能正常。健康对照组:在本院体检中心检查各项指标均正常,B 超检查排除腹部疾病。所有研究对象均未服用华法林、维生素 K 及维生素 K 拮抗剂类药物。

**1.2 方法** 采集所有研究对象清晨空腹 12 h 以上的静脉血 3 mL,以 3 000 r/min 离心 15 min,分离血清后置于 -80 °C 冰箱保存。PIVKA-II 和 AFP 均使用 Abbott i2000SR 全自动化学发光免疫分析仪及配套试剂进行检测,所有操作均按照仪器和试剂的说明书进行,试剂性能验证、质控均符合实验室要求。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS26.0 和 MedCalc 18.2.1 统计软件进行数据处理及统计分析。呈正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用方差分析,多组间中的两两比较采用 LSD-*t* 检验。呈非正态分布的计量资料以  $M(P_{25}, P_{75})$  表示,多组间比较采用非参数检验中的 Kruskal-Wallis *H* 检验,两两比较采用 Mann-Whitney *U* 检验。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析 AFP 及 PIVKA-II 诊断 HCC 的效能,确定其 cut-off 值。使用 Logistic 二元回归生成 AFP+PIVKA-II 联合新变量,并以该新变量绘制 ROC 曲线,计算曲线下面积(AUC),AUC 比较采用 *Z* 检验。采用 Spearman 相关分析对 AFP 及 PIVKA-II 与 HCC 患者肿瘤最大径的相关性进行分析。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结果

**2.1 4 组研究对象年龄及 PIVKA-II、AFP 水平比较** 4 组间年龄比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。4 组间血清 PIVKA-II 和 AFP 水平比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。进一步进行两两比较,结果显示,早期 HCC 组与中晚期 HCC 组的血清 PIVKA-II、AFP 水平均明显高于肝硬化组、健康对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );中晚期 HCC 组的血清 PIVKA-II、AFP 水平均明显高于早期 HCC 组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );而肝硬化组与健康对照组的血清 PIVKA-II、AFP 水平比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 1。

表 1 4 组研究对象年龄及 PIVKA-II、AFP 水平比较

组别	<i>n</i>	年龄( $\bar{x} \pm s$ , 岁)	AFP	PIVKA-II
			$[M(P_{25}, P_{75}), \text{ng/mL}]$	$[M(P_{25}, P_{75}), \text{mAU/mL}]$
早期 HCC 组	38	54.60 ± 1.38	10.90(4.13, 64.02) <sup>▲*</sup>	154.79(73.29, 394.18) <sup>▲*</sup>
中晚期 HCC 组	86	54.51 ± 1.35	122.77(10.81, 1 000.00) <sup>▲*#</sup>	1 027.67(68.78, 13 895.55) <sup>▲*#</sup>
肝硬化组	41	53.95 ± 1.80	2.97(2.49, 5.88)	24.56(18.79, 27.47)
健康对照组	30	53.13 ± 2.33	2.82(2.05, 3.48)	25.35(22.58, 30.79)
<i>F/U</i>		0.128	88.65	102.52
<i>P</i>		0.943	<0.001	<0.001

注:与健康对照组比较,▲ $P < 0.05$ ;与肝硬化组比较,\* $P < 0.05$ ;与早期 HCC 组比较,# $P < 0.05$ 。

**2.2 血清 PIVKA-II、AFP 水平与 HCC 患者肝脏肿瘤最大径之间的相关性分析** Spearman 相关分析结果显示,血清 PIVKA-II、AFP 水平与 HCC 患者的肝脏肿瘤最大径均呈正相关( $r=0.433, P=0.001; r=0.375, P=0.001$ )。

**2.3 AFP、PIVKA-II 单独及联合检测对 HCC 的诊断效能** 以 HCC 高危人群乙型肝炎相关肝硬化患者为对照分析 HCC 发生的独立危险因素,以 AFP 及 PIVKA-II 作为自变量,采用 Logistic 二元回归分析,建立回归模型分析,结果显示在乙型肝炎相关肝硬化患者中,AFP 和 PIVKA-II 升高均是 HCC 的独立危险因素( $P<0.05$ ),见表 2。

同时根据回归模型得到 AFP+PIVKA-II 联合新

变量预测概率值,构建 ROC 曲线,以 HCC 高危人群乙型肝炎相关肝硬化患者为对照进行预测 HCC 的验证,结果显示 AFP、PIVKA-II 及二者联合检测在 HCC 诊断中均有较高的诊断效能,且在 HCC 诊断中,PIVKA-II 检测的诊断效能高于 AFP,而二者联合检测的诊断效能又高于 PIVKA-II、AFP 单项指标检测,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 3、图 1。

表 2 HCC 预测指标的 Logistic 二元回归分析

变量	$\beta$	SE	Wald $\chi^2$	P	OR	OR 的 95%CI
AFP	0.071	0.036	3.995	0.046	1.074	1.001~1.152
PIVKA-II	0.058	0.017	11.944	0.001	1.059	1.025~1.095

表 3 AFP、PIVKA-II 单独及联合检测在 HCC 中的诊断效能

变量	AUC(95%CI)	约登指数	灵敏度 (%)	特异度 (%)	cut-off 值	阴性预测值 (%)	阳性预测值 (%)	P
AFP	0.856(0.793~0.906)	0.572	64.52	92.68	11.82 ng/mL	65.71	86.15	<0.001
PIVKA-II	0.932(0.882~0.965)	0.782	80.65	97.56	52.91 mAU/mL	68.62	94.74	<0.001
AFP+PIVKA-II	0.946(0.900~0.975)	0.859	86.29	97.56	—	72.00	95.65	<0.001

注:—为无数据。

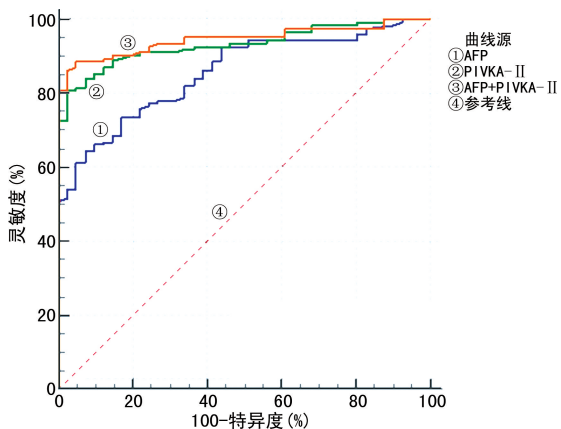


图 1 AFP、PIVKA-II、AFP+PIVKA-II 诊断 HCC 的 ROC 曲线

### 3 讨 论

HCC 是我国最为常见的恶性肿瘤之一,具有高发病率和高病死率的特点。在我国,HCC 大多与乙型肝炎病毒感染相关,50%以上患者在就诊时已经处于巴塞罗那分期的 B 期或 C 期,5 年生存率不足 20%。早期 HCC 患者的肿瘤恶性程度低,随着病情进展,其肿瘤体积逐渐增大,并侵袭周围组织,患者的生命安全遭受严重的威胁<sup>[7]</sup>,因此,早期筛查和诊治是降低 HCC 病死率的关键。

在早期 HCC 诊断中,影像学检查是最常用的手段,但由于部分早期 HCC 患者缺乏典型、特异性的临床特征,影像学检查易与其他肝脏病变混淆。为提高早期 HCC 的诊断准确性,临床上还主张采用血清肿瘤标志物对早期 HCC 进行辅助诊断。

AFP 是一种经典的用于 HCC 诊断的筛查指标,属于胚胎蛋白,不仅在 HCC 患者体内升高,还会在肝硬化、慢性肝炎等患者体内出现异常表达,导致仅采用 AFP 检测往往无法区分 HCC 与其他肝脏病变<sup>[8-9]</sup>。同时研究表明,30%的肝癌患者未出现 AFP 水平异常升高情况<sup>[3]</sup>,因此,AFP 在诊断早期 HCC 中存在一定的局限性。

近年来,PIVKA-II 在 HCC 诊断中逐渐得到关注与应用,其作为凝血酶原前体蛋白,主要合成于肝脏,并依靠维生素 K 转化为活性凝血因子。当患者机体内肝细胞发生变性坏死后,患者机体内胆汁淤积,致使维生素 K 出现利用障碍,凝血酶原前体谷氨酸残基往往会出现  $\gamma$  羧化障碍,大量羧化反应抑制因子释放,维生素 K 循环相关的凝血酶原前体发生异常,导致 PIVKA-II 表达异常升高,其灵敏度较高,在 HCC 发生早期即出现异常表达,在诊断 AFP 阴性的 HCC 患者时,可以降低漏检率<sup>[10]</sup>。

本研究结果显示,早期 HCC 组(BCLC-0/A)和中晚期 HCC 组(BCLC-B/C)的血清 PIVKA-II、AFP 水平均明显高于肝硬化组、健康对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),而肝硬化组与健康对照组的血清 PIVKA-II、AFP 水平比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),这说明血清 PIVKA-II、AFP 在 HCC 的诊断中有较高的价值。有研究显示,原发性肝癌患者的 PIVKA-II 水平升高先于影像学表现,且随着病情进展而升高,可在一定程度上反映原发性肝癌的发展进程<sup>[11-12]</sup>。本研究也证实了 PIVKA-II 水平与 HCC

患者的肝脏肿瘤最大径呈正相关( $P < 0.05$ )。PIVKA-II 可以作为监测 HCC 患者的肿瘤变化、治疗及预后判断的一项指标。

本研究还对 PIVKA-II 联合 AFP 检测对 HCC 的诊断效能进行了探讨,以乙型肝炎相关肝硬化患者为对照,绘制 ROC 曲线,通过计算得到 PIVKA-II 的 cut-off 值为 52.91 mAU/mL。且本研究结果显示,PIVKA-II,以及 PIVKA-II 联合 AFP 检测的诊断效能均高于 AFP。PIVKA-II,以及 PIVKA-II 联合 AFP 检测诊断 HCC 比 AFP 更灵敏,PIVKA-II 联合 AFP 检测可弥补单一 AFP 检测对 HCC 诊断的局限性,可提高乙型肝炎患者中早期 HCC 的检出率。

综上所述,PIVKA-II 在诊断 HCC 中有较好的辅助诊断价值,在乙型肝炎相关肝硬化患者中筛查 HCC 的 cut-off 值为 52.91 mAU/mL。PIVKA-II 联合 AFP 检测可以进一步提高对 HCC 的诊断效能,推荐将血清 PIVKA-II、AFP 联合检测用于早期 HCC 诊断,有利于及早发现早期 HCC,患者能够尽早接受治疗,提高生存率。

## 参考文献

- [1] BURT A D, ALVES V, BEDOSSA P, et al. Data set for the reporting of intrahepatic cholangiocarcinoma, perihilar cholangiocarcinoma and hepatocellular carcinoma: recommendations from the International Collaboration on Cancer Reporting (ICCR) [J]. *Histopathology*, 2018, 73(3): 369-385.
- [2] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会医政医管局. 原发性肝癌诊疗规范(2017 年版) [J]. *中华消化外科杂志*, 2017, 16(7): 635-647.
- [3] JENNIFER G, ANDREI B, PAUL J C, et al. Insights into the hepatocellular carcinoma patient journey: results of the first global quality of life survey [J]. *Future Oncology*, 2018, 14(17): 1701-1710.
- [4] CHEN D T, PAN J H, CHEN Y H, et al. The mu-opioid

receptor is a molecular marker for poor prognosis in hepatocellular carcinoma and represents a potential therapeutic target [J]. *Br J Anaesth*, 2019, 122(6): E157-E167.

- [5] CAVIGLIA G P, ABATE M L, GAIA S, et al. Risk of hepatocellular carcinoma in HBV cirrhotic patients assessed by the combination of miR-122, AFP and PIVKA-II [J]. *Panminerva Med*, 2017, 59(4): 283-289.
- [6] PURCELL Y, SARTORIS R, PARADIS V, et al. Influence of pretreatment tumor growth rate on objective response of hepatocellular carcinoma treated with transarterial chemoembolization [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2020, 35(2): 305-313.
- [7] SADIK N A, AHMED N R, MOHAMED M F, et al. Serum vascular endothelial growth factor in patients with hepatocellular carcinoma and its validity as a tumor biomarker [J]. *Open Biomarkers J*, 2019, 9(1): 84-94.
- [8] KOMOROWSKI A L, HSU C C, JULKA K D, et al. AFP role in predicting recurrence of hepatocellular carcinoma after living donor liver transplantation in HCV patients [J]. *Neoplasma*, 2018, 65(3): 455-460.
- [9] RAHAMTALLA F A, ABDALLA M S, MUDAWI S B, et al. Estimation of telomerase, AFP, and AFP-L3 levels in Sudanese patients with hepatocellular carcinoma and chronic liver diseases [J]. *Comp Clin Pathol*, 2018, 27(5): 1133-1140.
- [10] 薄维波, 李海英, 安仲武, 等. 血清 PIVKA-II、TK1 和 AFP 联合检测在肝细胞癌诊断中的价值 [J]. *国际检验医学杂志*, 2021, 42(11): 1317-1321.
- [11] 李梦华, 王映, 都小哈, 等. AFP 与 TAP 联合检测在肝细胞癌中的临床应用研究 [J]. *国际检验医学杂志*, 2021, 42(11): 1313-1316.
- [12] 胡仁智, 赵世巧, 申波, 等. 血清甲胎蛋白及其异质体和异常凝血酶原对原发性肝癌的诊断价值 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2019, 27(8): 634-637.

(收稿日期: 2021-11-09 修回日期: 2022-04-03)

(上接第 1894 页)

- [18] CASSINI A, HÖGBERG L D, PLACHOURAS D, et al. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis [J]. *Lancet Infect Dis*, 2019, 19(1): 56-66.
- [19] YIN D, DONG D, LI K, et al. Clonal dissemination of OXA-232 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*

in neonates [J]. *Antimicrob Agents Chem*, 2017, 61(8): e00385-17.

- [20] HU F P, GUO Y, ZHU D M, et al. Resistance trends among clinical isolates in China reported from CHINET surveillance of bacterial resistance, 2005 - 2014 [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2016, 22(Suppl 1): S9-S14.

(收稿日期: 2021-10-27 修回日期: 2022-03-23)