

论著·临床研究

## PIVKA-Ⅱ、AFP 和 AST/ALT 比值联合检测 在 HBV 感染原发性肝癌中的诊断价值

杨利拥<sup>1</sup>, 王 强<sup>2</sup>, 卢小岚<sup>2</sup>, 张 霞<sup>1</sup>, 王东生<sup>2△</sup>(1. 重庆市第九人民医院检验科, 重庆 400700; 2. 川北医学院医学检验系/附属医院检验科/  
转化医学研究中心, 四川南充 637000)

**摘要:**目的 探讨肿瘤标志物异常凝血酶原(PIVKA-Ⅱ)在乙型肝炎病毒(HBV)感染的原发性肝癌患者血清中的表达水平及其联合甲胎蛋白(AFP)和谷草转氨酶(AST)/谷丙转氨酶(ALT)比值检测在 HBV 感染原发性肝癌诊断中的应用价值。方法 收集 68 例 HBV 感染原发性肝癌患者血清,同时收集 109 例 HBV 感染的其他疾病(包括胆囊疾病 8 例、肝脏良性疾病 94 例和其他器官疾病 7 例)患者血清作为对照。用化学发光法检测患者血清 PIVKA-Ⅱ水平,电化学发光法检测 AFP 水平,速率法检测 AST 和 ALT 含量,并计算 AST/ALT 比值。比较各肿瘤标志物在两组间的表达水平,受试者工作特征曲线(ROC)分析各肿瘤标志物单独及联合应用对 HBV 感染的原发性肝癌的诊断效能。结果 HBV 感染的原发性肝癌组血清 PIVKA-Ⅱ、AFP 和 AST/ALT 比值水平均高于 HBV 感染的其他疾病,差异均具有统计学意义( $P < 0.01$ )。ROC 曲线分析表明,血清 PIVKA-Ⅱ、AFP 和 AST/ALT 比值的诊断临界值分别设定为 100.42 mAu/mL、232.35 ng/mL 和 1.571 时,其在诊断 HBV 感染原发性肝癌中的 ROC 曲线下面积(AUC)分别为 0.942、0.786 和 0.723,灵敏度分别为 89.70%、58.80%和 51.50%;特异度分别为 91.70%、88.10%和 79.80%。PIVKA-Ⅱ联合 AST/ALT 比值诊断 HBV 感染原发性肝癌的 AUC 最大,为 0.955,灵敏度为 86.80%,特异度为 93.40%。结论 PIVKA-Ⅱ诊断 HBV 感染原发性肝癌的价值明显优于 AFP 和 AST/ALT 比值,同时其联合 AST/ALT 比值将有助于提高 HBV 感染原发性肝癌诊断的价值。

**关键词:**异常凝血酶原; 甲胎蛋白; AST/ALT 比值; 乙型肝炎病毒; 原发性肝癌

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2019.03.023 **中图法分类号:**R735.7

**文章编号:**1673-4130(2019)03-0351-04 **文献标识码:**A

### The diagnostic value of PIVKA-Ⅱ combined with AFP and AST/ALT ratio in the diagnosis of primary liver cancer with HBV infection

YANG Liyong<sup>1</sup>, WANG Qiang<sup>2</sup>, LU Xiaolan<sup>2</sup>, ZHANG Xia<sup>1</sup>, WANG Dongsheng<sup>2△</sup>

(1. Department of Laboratory Medicine, the Ninth People's Hospital of Chongqing, Chongqing 400700, China; 2. College of Laboratory Medicine of North Sichuan Medical College, Department of Laboratory Medicine of Affiliated Hospital, Center for Translational Medicine, Nanchong, Sichuan 637000, China)

**Abstract: Objective** To investigate the expression level of protein induced by vitamin K absence or antagonist-Ⅱ (PIVKA-Ⅱ) in serum of primary liver cancer patients with HBV infection and combined with alpha-fetoprotein (AFP) and AST/ALT ratio in the diagnosis of primary liver cancer with HBV infection. **Methods**

Sera of 68 HBV infection patients with primary liver cancer were collected. Meanwhile, sera of 109 HBV infection patients (8 cases of gallbladder diseases, 94 cases of benign liver diseases, 7 cases of other organ diseases) were collected as controls. The serum levels of PIVKA-Ⅱ and AFP were detected by the method of chemiluminescent immunoassay and electrochemical luminescence respectively. The rate method was used to detect the content of AST and ALT, and the ratio of AST/ALT was calculated. Compared the expression level of tumor markers in each group, and the receiver operating characteristic (ROC) curve was applied to evaluate the diagnostic efficacy of individual and combined application of each index in the diagnosis of primary liver cancer. **Results** The sera levels of PIVKA-Ⅱ, AFP and AST/ALT ratio in primary liver cancer with HBV infection group were all higher than those in control group ( $P < 0.01$ ). ROC curve analysis showed that with the

作者简介:杨利拥,男,主管技师,主要从事临床检验与研究。△ 通信作者, E-mail: 13990820268@163.com。

本文引用格式:杨利拥,王强,卢小岚,等. PIVKA-Ⅱ、AFP 和 AST/ALT 比值联合检测在 HBV 感染原发性肝癌中的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(3): 351-354.

critical value of PIVKA-Ⅱ, AFP and AST/ALT ratio in serum were 100.42 mAu/mL, 232.35 ng/mL and 1.571 in the diagnosis of primary liver cancer with HBV infection, the area under the ROC curve (AUC) were 0.942, 0.786 and 0.723 respectively; the sensitivity were 89.70%, 58.80% and 51.50%; the specificity were 91.70%, 88.10% and 79.80%. The AUC of PIVKA-Ⅱ combined with AST/ALT ratio in the diagnosis of primary liver cancer with HBV infection was 0.955, the sensitivity and specificity were 86.80% and 93.40% respectively. **Conclusion** The value of PIVKA-Ⅱ in the diagnosis of primary liver cancer with HBV infection is obviously better than that of AFP and AST/ALT ratio. The combined detection with AST/ALT ratio will be helpful to improve the diagnostic efficacy of primary liver cancer with HBV infection.

**Key words:** protein induced by vitamin K absence or antagonist-Ⅱ; alpha-fetoprotein; AST/ALT ratio; hepatitis B virus; primary liver cancer

在我国,肝癌位于常见癌症中的第 4 位和常见癌症死亡原因中的第 3 位<sup>[1]</sup>。据估计,全世界每年肝癌新发病例中,有 50% 发生在我国<sup>[2]</sup>,而乙型肝炎病毒(HBV)感染是导致肝癌发生最常见的原因<sup>[3]</sup>。我国对于肝癌的诊断与治疗指南推荐超声和血清甲胎蛋白(AFP)水平作为高危人群的监测方法。然而,在临床使用过程中,AFP 诊断原发性肝癌的灵敏度仅为 40%~60%,早期原发性肝癌的灵敏度仅为 10%~20%,存在灵敏度较低的缺点,易造成疾病的漏检<sup>[4-5]</sup>。谷草转氨酶(AST)和谷丙转氨酶(ALT)是评价肝细胞功能的 2 个重要的酶,其比值的高低可用于评价肝脏的损伤程度。异常凝血酶原(PIVKA-Ⅱ)是一种在肝细胞合成过程中缺乏维生素 K 而导致合成缺陷的凝血酶原,无凝血功能。肝细胞癌时,由于癌细胞对凝血酶原前体的合成发生异常,凝血酶原前体羧化不足,生成大量的 PIVKA-Ⅱ<sup>[6]</sup>。作为新近发现的诊断原发性肝癌的肿瘤标志物,PIVKA-Ⅱ可能作为一种自体生长因子参与肝细胞癌的进展,PIVKA-Ⅱ血清水平与肝癌的大小、相关的微血管浸润、肝移植和/或肝癌结节切除后转移和复发密切相关。相对于 AFP 来说,在诊断原发性肝癌的灵敏度方面,PIVKA-Ⅱ具有较强的优势<sup>[7-8]</sup>。因此,为进一步明确 PIVKA-Ⅱ,以及联合 AFP 和 AST/ALT 比值检测在原发性肝癌中的诊断价值,笔者进行了以下研究。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取川北医学院附属医院 2016 年 11 月至 2017 年 8 月经病理检查确诊为原发性肝癌的初诊患者 68 例,其中男 57 例、女 11 例,年龄(51±9)岁;对照人群资料:胆囊疾病患者 8 例,其中男 5 例、女 3 例,年龄(52±11)岁;肝脏良性疾病患者 94 例,其中男 79 例、女 15 例,年龄(43±13)岁;其他器官疾病患者 7 例,其中男 5 例、女 2 例,年龄(47±10)岁。所有原发性肝癌患者及对照组患者均存在持续 6 个月以上的 HBV 感染。收集上述人群血清标本,冻存于-80℃冰箱备用。

**1.2 检测方法** 取出冻存标本,置于 37℃ 孵箱内复溶后,3 800 r/min 离心 5 min。采用化学发光法定量检测两组人群血清 PIVKA-Ⅱ水平,电化学发光法定

量检测血清 AFP 水平,速率法检测血清 AST 和 ALT 含量,并计算 AST/ALT 比值。所有操作严格按照仪器和试剂说明书进行。Abbott Architect i1000 全自动免疫分析仪以及配套的 PIVKA-Ⅱ试剂盒均为美国雅培产品,Cobas e602 电化学发光仪及配套的 AFP 试剂盒均为德国 Roche 公司产品,AU5800 全自动生化分析仪及配套的 AST 和 ALT 试剂盒均为美国贝克曼-库尔特公司产品。

**1.3 联合应用的数据处理** 参照文献所述<sup>[9]</sup>,受试者工作特征曲线(ROC 曲线)确定 PIVKA-Ⅱ、AFP 和 AST/ALT 比值对原发性肝癌的诊断临界值(cut-off)。血清 PIVKA-Ⅱ、AFP 和 AST/ALT 比值水平相对其相应的诊断临界值的倍数采用  $M_{\text{cut-off}}$  表示。本研究通过对相应肿瘤标志物的  $M_{\text{cut-off}}$  之和的分析来评价肿瘤标志物联合检测对 HBV 感染人群中原发性肝癌的诊断价值。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS19.0 软件包完成。经正态性检验,两组人群血清 PIVKA-Ⅱ、AFP 和 AST/ALT 比值均呈偏态分布,数据采用中位数(范围)表示。两组间数据比较采用 Mann-Whitney *U* 检验。 $P<0.05$  为差异有统计学意义, $P<0.01$  为差异有明显统计学意义。ROC 曲线确定诊断临界值、曲线下面积(AUC)、诊断敏感度和特异度。

## 2 结果

**2.1 两组人群血清 PIVKA-Ⅱ、AFP 水平和 AST/ALT 比值水平比较** 对两组人群血清 PIVKA-Ⅱ、AFP 水平和 AST/ALT 比值数据进行正态性检验,表明所有疾病组数据均呈偏态分布。原发性肝癌组 PIVKA-Ⅱ、AFP 水平和 AST/ALT 比值水平,明显高于 HBV 感染的其他疾病组,差异有明显统计学意义( $Z=-11.864, -9.499$  和  $-4.526, P<0.01$ )。结果见表 1。

**2.2 PIVKA-Ⅱ、AFP 水平和 AST/ALT 比值单独检测对原发性肝癌的诊断价值** 单独应用于诊断原发性肝癌,血清 PIVKA-Ⅱ、AFP 水平和 AST/ALT 比值的诊断临界值分别设定为 100.42 mAu/mL、232.35 ng/mL 和 1.571 时,PIVKA-Ⅱ与 AFP 和 AST/ALT 比值的 AUC 之间比较,差异均有统计学意义

( $P < 0.05$ ), 而 AFP 与 AST/ALT 比值之间比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。具体结果见表 2、图 1。

表 1 两组人群血清 PIVKA- II、AFP 和 AST/ALT 比值水平比较[中位数(范围)]

组别	n	PIVKA- II (mAu/mL)	AFP(ng/mL)	AST/ALT
原发性肝癌组	68	2 517.39(12.24~30 000)	500.40(1.38~100 000)	1.61(0.50~6.98)
其他疾病组	109	20.65(5.00~10 801)	11.90(0.61~2 377.20)	0.98(0.15~10.33)

表 2 PIVKA- II、AFP 和 AST/ALT 比值对原发性肝癌的诊断价值

项目	诊断阈值	AUC	95%CI	灵敏度	特异度	阳性似然比	阴性似然比
PIVKA- II	100.42 mAu/mL	0.942 <sup>ab</sup>	0.902~0.981	89.70%	91.70%	87.14%	93.46%
AFP	232.35 ng/mL	0.786 <sup>c</sup>	0.714~0.858	58.80%	88.10%	75.47%	77.42%
AST/ALT 比值	1.571	0.723	0.648~0.798	51.50%	79.80%	61.40%	72.50%

注:与 AFP 比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ;与 AST/ALT 比值比较,<sup>b</sup> $P < 0.01$ ;与 AST/ALT 比值比较,<sup>c</sup> $P > 0.05$

表 3 PIVKA- II、AFP 和 AST/ALT 比值联合检测对原发性肝癌的诊断价值

项目	AUC	95%CI	灵敏度	特异度	阳性似然比	阴性似然比
PIVKA- II & AFP	0.949	0.916~0.981	91.20%	87.20%	82.67%	94.06%
AFP&AST/ALT	0.811	0.743~0.880	55.90%	94.50%	83.36%	77.44%
PIVKA- II & AST/ALT	0.955	0.925~0.984	86.80%	93.60%	89.39%	91.89%
PIVKA- II & AFP&AST/ALT	0.950	0.915~0.984	92.60%	89.00%	84.00%	95.10%

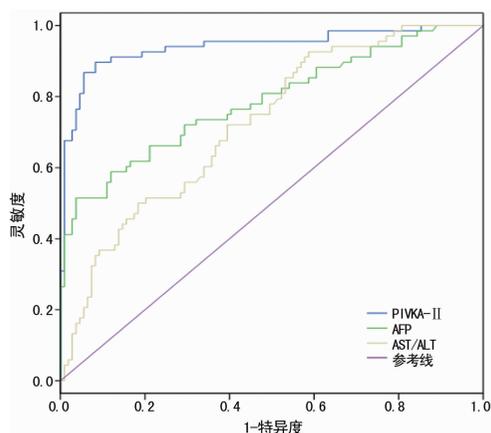


图 1 血清 PIVKA- II、AFP 和 AST/ALT 比值单独诊断原发性肝癌的 ROC 曲线

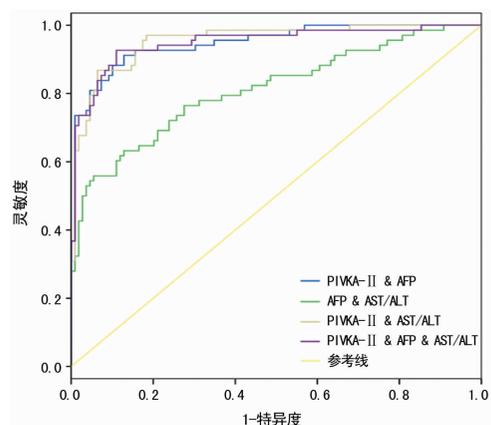


图 2 血清 PIVKA- II、AFP 和 AST/ALT 比值联合诊断原发性肝癌的 ROC 曲线

PIVKA- II 和 AST/ALT 比值联合检测诊断原发性肝癌的 AUC 均较单独应用有所提高, 尤其 PIVKA- II 联合 AST/ALT 比值应用的 AUC 达到 0.955, 具有很高的灵敏度和一定的特异度。具体结果见表 3、图 2。

### 3 讨论

PIVKA- II 是一种凝血酶原功能异常的蛋白质。其诊断原发性肝癌的灵敏度为 48%~62%, 特异度为 81%~98%。相对于 AFP 来说, 在肝脏良性疾病方面, PIVKA- II 具有更高的特异度<sup>[10]</sup>。基于以上的优点, PIVKA- II 被日本肝脏病学协会写入指南, 用于评价原发性肝癌的监测和治疗效果<sup>[11]</sup>。

慢性 HBV 感染是导致发生原发性肝癌的重要因素<sup>[12]</sup>, 通过对本院原发性肝癌的统计分析, HBV 感染原发性肝癌患者占有原发性肝癌的比例为 88.31%, 结果证明 HBV 是引起原发性肝癌的主要原因。因此本研究原发性肝癌人群以及对照组人群均选择的是 HBV 感染超过 6 个月的人群, 了解这部分原发性肝癌人群血清 PIVKA- II、AFP 水平和 AST/ALT 比值, 以及其诊断价值将具有重要的临床意义。本研究通过对 PIVKA- II、AFP 和 AST/ALT 比值的  $M_{cut-off}$  之和所得的结果进行分析来评价肿瘤标志物联合检测对原发性肝癌的诊断价值, 主要基于以下两方面的考虑: (1) 对于诊断肿瘤来说, 血清肿瘤标志物越高, 受检者罹患肿瘤的风险也就越高; (2) 单个肿瘤标志物阳性, 可能存在一部分病例漏检的情况。然而, 多个肿瘤标志物同时阳性, 即使为低滴度的阳性, 也应引起高度重视, 从而有效提高检出率。因此本研究采用  $M_{cut-off}$  之和来评价 PIVKA- II、

### 2.3 PIVKA- II、AFP 水平和 AST/ALT 比值联合检测对原发性肝癌的诊断价值 PIVKA- II、AFP 水

AFP 和 AST/ALT 比值联合诊断原发性肝癌, 提高诊断的价值。

WANG 等<sup>[13]</sup> 研究发现, 血清 PIVKA-II 是早期运用于诊断原发性肝癌及微血管侵犯的肿瘤标志物, PIVKA-II 的使用可有效提高肿瘤预后评估及指导治疗策略。从研究数据分析发现, PIVKA-II 和 AFP 单独应用于诊断 HBV 感染原发性肝癌时, PIVKA-II 的 AUC 明显高于 AFP, 表明 PIVKA-II 的诊断价值明显高于 AFP, 同时, PIVKA-II 的灵敏度为 89.70%, 明显高于 AFP 的 58.80%, 而 2 种肿瘤标志物诊断原发性肝癌的特异度差异无统计学意义, 造成这方面的原因可能与本次研究所选用的 HBV 感染原发性肝癌全部为首次初诊病例有关, 这表明 PIVKA-II 在诊断早期 HBV 感染原发性肝癌方面, 明显优于 AFP, 这与 WANG 等<sup>[13]</sup> 和 YU 等<sup>[14]</sup> 报道一致。同时, 研究数据也证明了上述观点。PIVKA-II、AFP 和 AST/ALT 比值单独应用于诊断原发性肝癌时, PIVKA-II 的诊断价值明显高于 AFP 和 AST/ALT 比值, 尤其在诊断灵敏度方面, 这与 YU 等<sup>[14]</sup> 报道相一致, PIVKA-II 在诊断早期原发性肝癌方面, 优于 AFP。对于 AFP 在 HBV 感染人群中, 诊断原发性肝癌的特异度较低的原因, 可能与对照人群选择密切相关, AFP 在肝脏良性疾病中存在升高的现象。本次研究所选用的原发性肝癌全部为首次初诊病例, 这可能是造成 PIVKA-II 的诊断价值明显优于 AFP 的主要原因。PIVKA-II 联合 AST/ALT 比值应用于原发性肝癌的诊断, AUC 结果有所提高, 达到 0.955, 而 AUC 结果越高, 表明诊断价值也就越大<sup>[15]</sup>, 另外联合检测具有较高的阳性似然比和阴性似然比, 这意味着联合检测应用于原发性肝癌诊断, 在保证较低的误诊率的情况下, 能更大程度地提高原发性肝癌的检出, 从而避免漏检情况的发生。

#### 4 结 论

PIVKA-II 对原发性肝癌具有较好的诊断价值, 尤其是联合 AST/ALT 比值检测时对于提高 HBV 感染原发性肝癌的检出率具有较大帮助。因此, PIVKA-II 作为一项新近的广泛运用于临床的肿瘤标志物, 其与 AST/ALT 比值联合检测将能有效提高原发性肝癌的诊断灵敏度, 在原发性肝癌的早期诊断方面具有良好的应用前景。

#### 参 考 文 献

[1] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.

[2] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.

[3] CAI S, CAO J, YU T, et al. Effectiveness of entecavir or

telbivudine therapy in patients with chronic hepatitis B virus infection pre-treated with interferon compared with de novo therapy with entecavir and telbivudine[J]. Medicine (Baltimore), 2017, 96(22): e7021.

- [4] GAO J, SONG P. Combination of triple biomarkers AFP, AFP-L3, and PIVAKII for early detection of hepatocellular carcinoma in China: Expectation[J]. Drug Discov Ther, 2017, 11(3): 168-169.
- [5] ERTLE J M, HEIDER D, WICHERT M, et al. A combination of  $\alpha$ -fetoprotein and des- $\gamma$ -carboxy Prothrombin is superior in detection of hepatocellular carcinoma[J]. Digestion, 2013, 87(2): 121-131.
- [6] ZHANG Y S, CHU J H, CUI S X, et al. Des- $\gamma$ -carboxy prothrombin (DCP) as a Potential autologous growth factor for the development of hepatocellular carcinoma[J]. Cell Physiol Biochem, 2014, 34(3): 903-915.
- [7] HIROKAWA F, HAYASHI M, MIYAMOTO Y, et al. Outcomes and predictors of microvascular invasion of solitary hepatocellular carcinoma[J]. Hepatol Res, 2014, 44(8): 846-853.
- [8] POTÉ 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.
- [9] 王强, 陈传艳, 王东生, 等. 血清 HE4、CEA、NSE 和 Cyfra21-1 联合检测在肺癌中的诊断价值 [J]. 重庆医学, 2017, 46(26): 3721-3722.
- [10] MARRERO J A, SU G L, WEI W, et al. Des-gamma carboxyprothrombin can differentiate hepatocellular carcinoma from nonmalignant chronic liver disease in american patients[J]. Hepatology, 2003, 37(5): 1114-1121.
- [11] KUDO M, IZUMI N, KOKUDO N, et al. Management of hepatocellular carcinoma in Japan: Consensus-Based Clinical Practice Guidelines proposed by the Japan Society of Hepatology (JSH) 2010 updated version [J]. Dig Dis, 2011, 29(3): 339-364.
- [12] SEO S I, KIM H S, KIM W J, et al. Diagnostic value of PIVKA-II and alpha-fetoprotein in hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma [J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(13): 3928-3935.
- [13] WANG X, ZHANG W, LIU Y, et al. Diagnostic value of prothrombin induced by the absence of vitamin K or antagonist-II (PIVKA-II) for early stage HBV related hepatocellular carcinoma [J]. Infect Agent and Cancer, 2017, 12(1): 47.
- [14] YU R, TAN Z, XIANG X, et al. Effectiveness of PIVKA-II in the detection of hepatocellular carcinoma based on real-world clinical data [J]. BMC Cancer, 2017, 17(1): 608.
- [15] COOK N R. Statistical evaluation of prognostic versus diagnostic models: Beyond the ROC curve [J]. Clin Chem, 2008, 54(1): 17-23.