

# AFP-L3 和 PIVKA-Ⅱ 检测 对高危人群良恶性肝病的鉴别诊断价值\*

卓传尚, 柳丽娟, 周淑燕

(福建医科大学孟超肝胆医院/福州市传染病医院检验科, 福州 350025)

**摘要:**目的 探讨 AFP-L3 和 PIVKA-Ⅱ 在联合检测对高危人群中良恶性肝病鉴别诊断的临床价值。方法 回顾性分析 48 例原发性肝癌、43 例肝硬化和 81 例慢性乙型肝炎患者血清甲胎蛋白异质体 (AFP-L3) 和异常凝血酶原 (PIVKA-Ⅱ) 水平。结果 原发性肝癌组、肝硬化组和慢性乙型肝炎组三组间血清 AFP 水平差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 4.014, P = 0.134$ ); 原发性肝癌组 AFP-L3 和 PIVKA-Ⅱ 的中位值均高于肝硬化组和慢性乙型肝炎组 ( $\chi^2 = 33.93, 52.33$ , 均  $P < 0.001$ ); AFP-L3 诊断肝癌的特异度较高 (92.74%), PIVKA-Ⅱ 的敏感度较高 (79.17%), 二者以串联方式联合检测将准确度提高到 84.88%。结论 AFP-L3 和 PIVKA-Ⅱ 以串联方式联合检测有助于高危人群良恶性肝病的鉴别诊断。

**关键词:** 原发性肝癌; 肝硬化; 慢性乙型肝炎; 异常凝血酶原; 甲胎蛋白异质体

中图分类号: R735.7; R730.43 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2017)04-040-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2017.04.011

## Performance of Serum AFP-L3 and PIVKA-Ⅱ in Differential Diagnosis of Benign and Malignant Liver Disease in High Risk Population

ZHUO Chuan-shang, LIU Li-juan, ZHOU Shu-yan (Department of Clinical Laboratory, the Mengchao Hepatobiliary Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350025, China)

**Abstract: Objective** To explore the performance of serum AFP-L3 and PIVKA-Ⅱ in differential diagnosis of benign and malignant liver disease in high risk population. **Methods** The serum levels of AFP-L3 and PIVKA-Ⅱ in 48 patients with primary hepatic carcinoma, 43 patients with cirrhosis and 81 patients with chronic hepatitis B were analyzed retrospectively. **Results**

There was no statistically different significance among the median levels of serum AFP in primary hepatic carcinoma patients, cirrhosis patients and chronic hepatitis B patients ( $\chi^2 = 4.014, P = 0.134$ ). Both median level of AFP-L3 and PIVKA-Ⅱ in primary hepatic carcinoma patients were higher than cirrhosis patients and chronic hepatitis B patients ( $\chi^2 = 33.93, 52.33$ , both of  $P$  values were below 0.001). The specificity (92.74%) of AFP-L3 and the sensitivity (79.17%) of PIVKA-Ⅱ were all higher. The accuracy (84.88%) of combined detection in series was the highest, with its 47.92% of sensitivity and 99.19% of specificity. **Conclusion** Combined detection PIVKA-Ⅱ and AFP-L3 series will help to differential diagnosis of benign and malignant liver disease in high risk population.

**Keywords:** primary hepatic carcinoma; cirrhosis; chronic hepatitis B; AFP-L3; PIVKA-Ⅱ

原发性肝癌 (primary hepatic carcinoma, PHC) 是我国最常见的恶性肿瘤之一, 其病死率位居恶性肿瘤病死率的第三位, 其中 80% 的 PHC 与慢性乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 感染有关<sup>[1,2]</sup>。虽然甲胎蛋白 ( $\alpha$ -fetoprotein, AFP) 是目前运用最广泛的肝癌筛查和诊断标志物, 但是 30~40% 的 PHC 患者 AFP 并不升高, 而且慢性乙型肝炎和肝硬化患者血清 AFP 呈普遍升高<sup>[3]</sup>。因此 AFP 诊断 PHC 的敏感度和特异度不高, 迫切需要新的标志物或策略对肝癌高危人群进行良恶性肝病的鉴别诊断。

甲胎蛋白异质体 (AFP-L3) 和异常凝血酶原 (protein induced by vitamine K absence or antagonist-Ⅱ, PIVKA-Ⅱ) 是近年逐渐广泛应用的两种

肝癌标志物。AFP-L3 是岩藻糖基化型 AFP。与 AFP 相比, AFP-L3 具有较高的特异性, 对低浓度 AFP 患者具有显著的诊断价值<sup>[4]</sup>。PIVKA-Ⅱ 是肝细胞恶变时产生的无活性凝血酶原, 本研究的前期研究显示, PIVKA-Ⅱ 诊断 PHC 的效能优于 AFP<sup>[5]</sup>。而且最近一项多中心临床研究结果显示血清 PIVKA-Ⅱ 和 AFP 水平之间无相关性<sup>[6]</sup>。

因此, 本研究拟通过回顾性分析 172 例血清 AFP 水平在 10~2 000 ng/ml 的慢性乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 感染患者的血清 PIVKA-Ⅱ 水平和 AFP-L3 百分比, 评估 AFP-L3 和 PIVKA-Ⅱ 联合检测对肝癌高危人群良恶性肝病鉴别诊断的应用价值。

### 1 材料与方法

\* 基金项目: 福建中医药大学临床专项校管课题 (XB2015071), 福州市卫生计生科技计划项目 (2016-S-wt9)。

作者简介: 卓传尚 (1974—), 男, 硕士学位, 副主任技师, 从事感染性疾病实验诊断与研究, E-mail: hjjzoe@163.com。

1.1 研究对象 172例慢性HBV感染者均为2015年6月~2016年6月期间在福建医科大学孟超肝胆医院的住院病例,包括48例原发性肝癌(primary hepatic carcinoma,PHC),81例慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B,CHB)和43例CHB后肝硬化(liver cirrhosis,LC)。原发性肝癌、肝硬化和慢性乙型肝炎诊断标准分别符合“原发性肝癌诊疗规范(2011年版)”<sup>[7]</sup>和“慢性乙型肝炎防治指南(2015年更新版)”<sup>[8]</sup>,肝硬化和慢性乙型肝炎患者经影像学检查(CT,MRI和/或B超)排除原发性肝癌。所有病例血清AFP浓度在10~2 000 ng/ml之间,且乙肝表面抗原(HBsAg)和/或乙肝病毒DNA(HBV DNA)阳性,排除酒精性肝病和丙型肝炎(HCV)抗体IgM和/或HCV RNA阳性患者。

1.2 试剂和仪器 AFP-L3分离采用北京热景生物科技股份有限公司生产的亲和吸附离心柱;AFP和PIVKA-II检测采用化学发光法,仪器采用日本富士瑞必欧株式会社的LUMIPULSE<sup>®</sup> G1200化学发光免疫分析仪及其配套试剂。

1.3 方法

1.3.1 AFP-L3检测:首先应用亲和吸附离心柱分离AFP-L3,再用LUMIPULSE<sup>®</sup> G1200化学发光免疫分析仪检测血清总AFP和AFP-L3绝对值,计算AFP-L3在总AFP中的百分比,以AFP-L3 $\geq$ 10%为阳性,所有操作步骤均严格按试剂和仪器说明书进行。

1.3.2 PIVKA-II检测:采用LUMIPULSE<sup>®</sup> G1200化学发光免疫分析仪检测PIVKA-II<sup>[5]</sup>,诊断临界值为40 mAu/ml。

1.4 统计学分析 运用SPSS 16.0(IBM,美国)进行统计分析,运用GraphPad Prism 5.0(GraphPad Software,美国)绘制散点图。采用均值 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )描述正态分布的连续性资料,多个独立样本和组间比较分别采用单因素方差分析(ANVOA)和独立样本 $t$ 检验。采用中位值(范围)描述偏态分布的连续性资料,多个独立样本和组间比较分别采用Kruskal-Wallis  $H$ 非参数方差分析和Mann-Whitney  $U$ 秩和检验。运用Medcalc 11.4.2.0(MedCalc Software bvba,比利时)软件绘制受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve,ROC)并比较曲线下面积(AUC),运用二元logistic回归分析模型绘制PIVKA-II和AFP-L3联合诊断ROC曲线。计算各血清标志物的敏感度、特异度和准确度。所有统计均以 $P<0.05$ (双侧)为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组患者人口学特征和实验室指标比较 见表1。原发性肝癌、肝硬化和慢性乙型肝炎患者的性别构成比和血清AFP水平差异无统计学意义,但肝癌组中位年龄高于肝硬化组和慢性乙型肝炎组。此外,91.17%(44/48)的原发性肝癌患者具有肝硬化基础疾病。

表1 各组患者人口学特征和实验室检测指标					
项 目	PHC	LC	CHB	$\chi^2/F$	$P$
Age(岁)	60(41~78)	54.5(27~76)	40(21~77)	45.567	<0.001
Gender(M/F)	37/11	30/13	65/16	1.733	0.420
Total Bilirubin( $\mu$ mol/L)	18.8(9.4~623.8)	31.85(7.2~472)	35.9(11.5~86.5)	8.83	0.012
Albumin(g/L)	35.21 $\pm$ 5.66	33.59 $\pm$ 5.37	35.93 $\pm$ 5.37	3.624	0.029
ALT(IU/L)	41.5(12~221)	66(15~2 196)	363(18~3 442)	52.123	<0.001
AST(IU/L)	44(17~461)	86.5(15~863)	189(28~3 063)	24.511	<0.001
PTA(%)	76.93 $\pm$ 19.35	65.71 $\pm$ 15.35	77.5 $\pm$ 21.24	4.885	0.009
Platelet( $\times 10^9/L$ )	100(34~226)	94(41~220)	163(51~302)	40.641	<0.001
AFP(ng/ml)	120.375(10.75~1857.25)	72.25(12.18~1116.75)	143.5(11.20~1 859.75)	4.014	0.134

2.2 各组血清AFP-L3和PIVKA-II水平比较 见表2。原发性肝癌组AFP-L3和PIVKA-II的中位值均高于肝硬化组和慢性乙型肝炎组。

表2 各组患者血清AFP-L3和PIVKA-II比较					
项 目	PHC	LC	CHB	$\chi^2$	$P$
AFP-L3(%)	11.26(2.5~26.55)	4.96(2.11~21.49) <sup>a</sup>	5.93(1.48~14.28) <sup>a,b</sup>	33.93	<0.001
PIVKA-II(mAU/ml)	277(11~75 000)	22(6~1 572) <sup>a</sup>	27(10~94) <sup>a,b</sup>	52.33	<0.001

注:<sup>a</sup>与PHC比 $P<0.001$ ;<sup>b</sup>与LC比 $P>0.05$ 。

### 2.3 各组血清 AFP-L3 和 PIVKA-II 阳性率比较

根据文献报道及试剂说明书, AFP-L3 和 PIVKA-II 的诊断临界值分别为 10% 和 40 mAu/ml, 原发性肝癌组、肝硬化组和慢性乙型肝炎组的 AFP-L3 和 PIVKA-II 阳性率分别为 60.42%, 2.33% 和 9.88% ( $\chi^2 = 57.74$ ,  $P < 0.001$ ) 及 79.17%, 20.93% 和 18.52% ( $\chi^2 = 53.72$ ,  $P < 0.001$ )。

2.4 AFP-L3 和 PIVKA-II 在良恶性肝病鉴别诊断中的应用价值 ROC 曲线分析显示, AFP-L3 和 PIVKA-II 诊断原发性肝癌的曲线下面积

(AUC) 分别为 0.776 (95% CI: 0.711~0.840) 和 0.850 (95% CI: 0.791~0.902), 二者差异无统计学意义 ( $Z = 1.151$ ,  $P = 0.250$ )。PIVKA-II 和 AFP-L3 联合诊断的 AUC 为 0.862 (95% CI: 0.801~0.910), 高于 AFP-L3 ( $Z = 2.882$ ,  $P = 0.004$ ), 略高于 PIVKA-II 但差异无统计学意义 ( $Z = 0.175$ ,  $P = 0.8614$ ), 见图 1。AFP-L3 诊断肝癌敏感度较高, 而 PIVKA-II 的敏感度较好, 二者以并联方式联合检测 (AFP-L3  $\geq 10\%$  或 PIVKA-II  $\geq 40$  mAu/ml) 时敏感度最高, 当二者以串联方式联合检测的特异度和准确度达最高, 见表 3。

表 3 AFP-L3 和 PIVKA-II 单独及联合检测的敏感度、特异度和准确度 (%)

项目	敏感度	特异度	准确度
AFP-L3 $\geq 10\%$	60.42	92.74	83.72
PIVKA-II $\geq 40$ mAu/ml	79.17	80.65	80.23
联合检测 1 (AFP-L3 $\geq 10\%$ 或 PIVKA-II $\geq 40$ mAu/ml)	91.67	74.19	79.07
联合检测 2 (AFP-L3 $\geq 10\%$ 且 PIVKA-II $\geq 40$ mAu/ml)	47.92	99.19	84.88

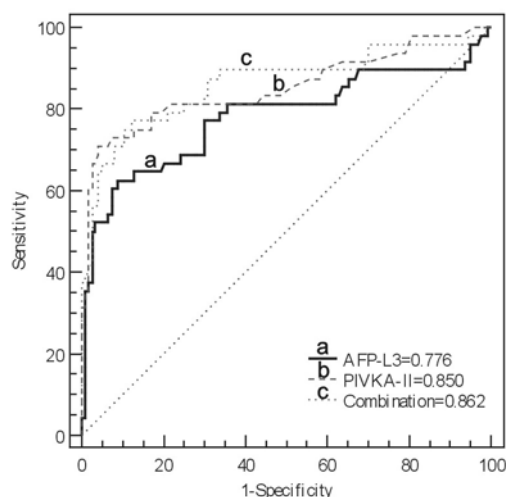


图 1 AFP-L3, PIVKA-II 及其联合检测诊断原发性肝癌的 ROC 曲线

3 讨论 虽然 AFP 是运用最广泛的肝癌标志物, 但是不少慢性肝病患者血清 AFP 亦可升高, 尤其是慢性乙型肝炎和肝硬化患者血清 AFP 呈普遍升高<sup>[3]</sup>。因此, 在高危人群中 AFP 诊断肝癌的特异度不高, 本研究前期研究中 AFP  $\geq 10$  mg/ml 的特异度仅为 34.64%<sup>[5]</sup>。在本组研究病例中, 由于 AFP 限定在 10~2 000 ng/ml 之间, 原发性肝癌组血清 AFP 水平与慢性乙型肝炎组和肝硬化组之间的差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 4.014$ ,  $P = 0.134$ ), 提示本组病例中 AFP 已经丧失对良恶性肝病鉴别诊断的能力。但是原发性肝癌患者血清 AFP-L3 和 PIVKA-II 水平均显著高于肝硬化组和慢性乙型肝炎组, 而且 AFP-L3 和 PIVKA-II 诊断肝癌的曲

线下面积分别为 0.776 和 0.850, 这些结果与 Lim 等<sup>[9,10]</sup> 报道相符, 提示可运用血清 AFP-L3 和 PIVKA-II 对血清 AFP 升高的慢性 HBV 感染患者进行良恶性肝病的鉴别诊断。

早前 Choi 等<sup>[11]</sup> 报道 AFP-L3 的敏感度低于 PIVKA-II, 而特异度高于 PIVKA-II。但本研究结果显示 AFP-L3 的敏感度 (60.42%) 低于 PIVKA-II (79.17%), 但特异度 (92.74%) 高于 PIVKA-II (80.65%)。其原因主要是研究病例与对照的纳入标准不同, 本研究仅纳入 HBV 相关肝癌和慢性 HBV 感染, 而 Choi 等<sup>[11]</sup> 的研究病例病因复杂, 包括 HBV 和 HCV 感染, 以及酒精性因素等。有报道显示酒精性肝病本身会影响血清 PIVKA-II 表达水平<sup>[12]</sup>。因此本研究更能准确地反映 PIVKA-II 在慢性 HBV 感染中的诊断效能。

虽然本研究结果提示 PIVKA-II 和 AFP-L3 联合检测可提高高危人群良恶性肝病鉴别诊断准确度, 但存在以下不足之处: 首先, 本研究是一项回顾性病例对照研究, 病例数有限; 其次, 病例组和对年龄存在一定的偏倚, 即慢性乙型肝炎组、肝硬化组和原发性肝癌组的中位年龄逐一升高, 这种年龄变化可能与慢性 HBV 感染发展规律有关; 第三, 本研究未对慢性乙型肝炎和肝硬化患者, 尤其是 PIVKA-II  $> 40$  mAu/ml 或/和 AFP-L3 阳性患者跟踪随访, 因此未能准确反映二者的实际诊断效能; 最后, 由于 AFP-L3 检测的方法学因素, 本研究研究对象限定在血清 AFP 浓度在 10~2 000 ng/ml 之间的慢性 HBV 感染患者, (下转 46 页)

(上接 42 页)对于 AFP 小于 10 ng/ml 慢性 HBV 感染患者的鉴别诊断有待进一步研究。

总之,本研究结果提示 PIVKA-II 和 AFP-L3 是良好的肝癌标志物,前者敏感度较高,后者特异度高,以并联方式联合检测可将敏感度提高到 91.67%,该方案适用于高危人群的肝癌筛查;二者以串联方式联合检测时,诊断特异度高达 99.19%,该方案适用于高危人群的不良性肝病的鉴别诊断。

#### 参考文献:

- [1] Chen W,Zheng R,Baade PD,et al. Cancer statistics in China,2015[J]. CA: A Cancer J Clin,2016,66(2):115-132.
- [2] Wang FS,Fan JG,Zhang Z,et al. The global burden of liver disease;the major impact of China[J]. Hepatology,2014,60(6):2099-2108.
- [3] 刘田田,左维泽. 慢性乙型肝炎患者血清中甲胎蛋白、糖链抗原 19-9 的临床意义分析[J]. 吉林医学,2014,35(8):1577-1579.  
Liu TT,Zuo WZ., A analysis of the clinical significance of serum alpha-fetoprotein and carbohydrate antigen-19-9 in chronic hepatitis B patients[J]. Jilin Medical Journal,2014,35(8):1577-1579.
- [4] Cheng J,Wang W,Zhang Y,et al. Prognostic role of pre-treatment serum AFP-L3% in hepatocellular carcinoma:systematic review and meta-analysis[J]. PLoS One,2014,9(1):e87011.
- [5] 周淑燕,卓传尚,柳丽娟,等. PIVKA-II 和 AFP 联合检测对原发性肝癌的诊断价值[J]. 现代检验医学杂志,2017,32(1):69-71.  
Zhou SY,Zhuo CS,Liu LJ,et al. Clinical value of serum PIVKA-II and AFP detection for primary hepatocellular carcinoma[J]. J Mod Lab Med,2017,32(1):69-71.
- [6] Ji J,Wang H,Li Y,et al. Diagnostic evaluation of des-

gamma-carboxy prothrombin versus  $\alpha$ -fetoprotein for hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma in China:a large-scale,multicentre study[J]. PLoS One,2016,11(4):e0153227.

- [7] 中华人民共和国卫生部. 原发性肝癌诊疗规范(2011 年版)[J]. 临床肿瘤学杂志,2011,16(10):929-946.  
Ministry of Health of the People's Republic of China. Diagnosis,management and treatment of hepatocellular carcinoma[V2001][J]. Chinese Clinical Oncology,2011,16(10):929-946.
- [8] 中华医学会肝病学分会和中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2015 更新版)[J]. 胃肠病学,2016,21(4):219-240.  
Chinese Society of Hepatology Chinese Medical Association, Chinese Society of Infectious Diseases Chinese Medical Association. The guideline of prevention and treatment for chronic hepatitis B: A2015 update [J]. Chin J Gastroenterol,2016,21(4):219-240.
- [9] Lim TS,Kim DY,Han KH,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.
- [10] Park SJ,Jang JY,Jeong SW,et al. Usefulness of AFP,AFP-L3, and PIVKA-II, and their combinations in diagnosing hepatocellular carcinoma[J]. Medicine (Baltimore),2017,96(11):e5811.
- [11] Choi JY,Jung SW,Kim HY,et al. Diagnostic value of AFP-L3 and PIVKA-II in hepatocellular carcinoma according to total-AFP[J]. World J Gastroenterol,2013,19(3):339-346.
- [12] Kang KH,Kim JH,Kang SH,et al. The influence of alcoholic liver disease on serum PIVKA-II levels in patients without hepatocellular carcinoma [J]. Gut Liver,2015,9(2):224-230.

收稿日期:2017-04-07

修回日期:2017-07-03