

·专题·先天性胆道闭锁·

PIVKA-Ⅱ对胆道闭锁的诊断价值及其与肝功能的相关性研究

裴家好 陈 功 郑 珊 董岩然 董 瑞

【摘要】 目的 初步探讨 PIVKA-Ⅱ对胆道闭锁的诊断价值及其与肝功能各项指标间的相关性。

方法 以复旦大学附属儿科医院 2016 年 7 月至 2017 年 3 月收治的 131 例因梗阻性黄疸入院且术中诊断为胆道闭锁的患儿为研究对象。选取排除胆道闭锁的胆汁淤积症患者及同年龄段行臂丛神经损伤修复手术且肝功能正常的患儿作为对照组,测定各组的血清 PIVKA-Ⅱ含量并进行统计分析。

结果 3 组患儿 PIVKA-Ⅱ水平分别为:胆道闭锁组 29.39 (19.29 ~ 173.80) mAU/mL;胆汁淤积组 22.59 (18.20 ~ 38.34) mAU/mL;肝功能正常组 24.77 (21.01 ~ 29.20) mAU/mL。胆道闭锁组患儿血清 PIVKA-Ⅱ含量比其他两组更高 ($P < 0.05$);PIVKA-Ⅱ在对胆道闭锁及胆汁淤积进行鉴别诊断时,敏感性与特异性分别为 97.67% 和 35.11%;PIVKA-Ⅱ含量在不同性别组中比较无统计学差异 ($P > 0.05$);各年龄段胆道闭锁患儿 PIVKA-Ⅱ水平无统计学差异 ($P > 0.05$);PIVKA-Ⅱ与 γ -谷氨酰转氨酶、胆红素、肝功能、白蛋白之间无统计学相关性 ($P > 0.05$);PIVKA-Ⅱ与各凝血功能指标之间亦无统计学相关性 ($P > 0.05$)。 **结论** 梗阻性黄疸患儿普遍存在 PIVKA-Ⅱ水平异常,其中胆道闭锁患儿 PIVKA-Ⅱ水平升高更为显著,有一定鉴别意义,或可将 PIVKA-Ⅱ作为术前诊断胆道闭锁的参考指标。

【关键词】 胆道闭锁;异常凝血酶原;胆汁淤积

Diagnostic value of PIVKA-Ⅱ for biliary atresia and its correlations with liver functions. Pei Jiahao, Chen Gong, Zheng Shan, Dong Kuiran, Dong Rui. Department of Surgery, Affiliated Children's Hospital, Fudan University; Shanghai Municipal Key Laboratory of Preventing & Treating Birth Defects, Shanghai 201102, China. Corresponding author: Dong Rui, Email: dongrui_1982@126.com

【Abstract】 Objective To explore the diagnostic value of PIVKA-Ⅱ for biliary atresia (BA) and its correlation with liver functions. **Methods** From July 2016 to March 2017, a total of 131 patients with obstructive jaundice were collected. Basic profiles and preoperative serum were collected for testing the value of PIVKA-Ⅱ. **Results** The level of PIVKA-Ⅱ was 29.39 (19.29 ~ 173.80) mAU/mL in BA group, 22.59 (18.20 ~ 38.34) mAU/mL in cholestasis group and 24.77 (21.01 ~ 29.20) mAU/mL in normal liver function group. Significant differences existed among three groups. And the serum level of PIVKA-Ⅱ in BA children was higher than that of another two groups ($P < 0.05$). In the differential diagnosis of PIVKA-Ⅱ between groups of BA and cholestasis, the sensitivity and specificity of diagnosing were 97.67% and 35.11% respectively. No significant difference existed in PIVKA-Ⅱ level between boys and girls with BA ($P > 0.05$). And no significant difference existed in PIVKA-Ⅱ level among BA children of all ages ($P > 0.05$). PIVKA-Ⅱ and gamma-glutamyl transferase, bilirubin, liver function, albumin showed no correlation ($P > 0.05$). No statistically significant correlation existed between PIVKA-Ⅱ and coagulatory function. **Conclusion** BA Children with obstructive jaundice has widespread anomalies of PIVKA-Ⅱ level. It may be used as a reference index of preoperative diagnosis of BA.

【Key words】 Biliary Atresia; PIVKA-Ⅱ; Cholestasis

胆道闭锁是新生儿胆汁淤积的常见病因,据国

内统计,单中心手术患儿 2 年自体肝生存率约为 56.1%;而在我国台湾地区和英国,胆道闭锁自体肝生存率在 80% 以上^[1]。因此,如何准确识别胆道闭锁在我国仍有进一步研究的空间^[1]。

PIVKA-Ⅱ (Proteins Induced by Vitamin K Absence or Antagonism) 是广泛分布于人体内的一种异

DOI:10.3969/j.issn.1671-6353.2018.11.003

基金项目:上海申康医院发展中心联合攻关项目(编号:SHDC12014106);上海市重点学科(编号:2017ZZ02022)

作者单位:复旦大学附属儿科医院外科(上海市,201102)

通讯作者:董瑞,Email: dongrui_1982@126.com

常的凝血酶原,与机体凝血功能变化有关^[2-3]。有文献报道 PIVKA-II 水平对于胆道闭锁患儿颅内出血有一定的诊断意义^[4-6]。另外,在原发性肝细胞肝癌患儿中,PIVKA-II 的诊断价值甚至高于 AFP,联用 AFP 及 PIVKA-II 可提高肝癌筛选的敏感性及特异性^[7-10]。目前,PIVKA-II 在胆道闭锁诊治中的应用研究较少。由于胆道闭锁患儿凝血功能、肝功能多存在异常,故推测其 PIVKA-II 水平可能发生变化。因此,本研究将针对胆道闭锁患儿术前 PIVKA-II 水平进行检测,并分析 PIVKA-II 与胆道闭锁患儿肝功能指标及凝血功能的相关性,初步探索 PIVKA-II 在胆道闭锁中的诊断价值。

材料与方法

一、研究对象

以本院 2016 年 7 月至 2017 年 3 月因梗阻性黄疸入院,术中诊断为胆道闭锁的患儿为研究对象。并选取排除胆道闭锁的胆汁淤积症患儿及同年龄段行臂丛神经损伤修复手术且肝功能正常的患儿作为对照。

胆道闭锁病例纳入标准:①在本院行胆道探查、胆道造影术,术中胆道造影证实为胆道闭锁者;②未合并其他系统畸形者。胆汁淤积病例纳入标准:①因梗阻性黄疸入院者;②术中胆道造影通畅,排除胆道闭锁的胆汁淤积者;③无其他系统畸形者。对照组儿童纳入标准:①年龄<4 个月臂丛神经损伤者;②术前肝肾和凝血功能正常者;③无肝炎等传染病家族史者;④无其他系统畸形者。

排除标准:①胆道闭锁合并胆汁淤积症者;②同年龄段行臂丛神经损伤修复手术且肝功能正常者;③胆道发育不良及合并其他系统严重畸形(如先天性心脏病)者。

二、研究方法

记录患儿的基本临床资料(性别、年龄等)及肝功能、凝血功能检测结果并编号。收集实验组及对照组患儿全血样本,常温下以 3 000 r/min 的速度离心 10 min,分离得到血清,通过 ARCHITECT i2000 测试仪及相应的 ELISA 试剂盒(雅培公司提供)测定血清 PIVKA-II 含量。

以全血为样本测定凝血功能指标,测定仪器为全自动凝血仪,检测项目包括凝血酶原时间、国际标准化比值、活化部分凝血活酶时间及凝血酶原活性、纤维蛋白原等。

以血清为样本测定肝功能指标,测定仪器为日立全自动生化分析仪,检测项目包括总胆红素、直接胆红素、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、 γ -谷氨酰转氨酶、白蛋白等。

三、统计学方法

采用 Graphpad Prism 6 进行统计分析。采用 Kolmogorov-Smirnov 检验对所有连续型变量进行正态检验后发现所有计量资料均为非正态分布,故各组间 PIVKA-II 水平采用中位数(四分位数)进行统计描述;两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验;多组间比较采用 Kruskal-Wallis 检验。采用 Spearman 法进行相关性分析,采用受试者工作曲线(ROC)及曲线下面积(AUC)反映 PIVKA-II 的诊断效能,不同 AUC 之间的比较采用 Z 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、PIVKA-II 在 3 组患儿中的分布

3 组患儿 PIVKA-II 水平分别为:胆道闭锁组 29.39 (19.29 ~ 173.80) mAU/mL;胆汁淤积组 22.59 (18.20 ~ 38.34) mAU/mL;肝功能正常儿童组 24.77 (21.01 ~ 29.20) mAU/mL (图 1)。Kruskal-Wallis 检验结果显示 3 组患儿间 PIVKA-II 水平存在统计学差异($H = 15.63, P = 0.0004$)。两两比较的结果显示,胆道闭锁组与胆汁淤积组间有统计学差异($U = 4086, P = 0.0006$);胆道闭锁组与肝功能正常儿童组间有统计学差异($U = 10600, P = 0.0007$);而胆汁淤积组与肝功能正常儿童组间无统计学差异($U = 8332, P = 0.3898$)。

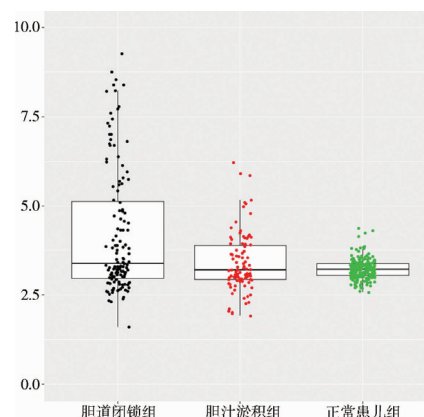


图 1 PIVKA-II 水平在胆道闭锁组、胆汁淤积组和正常儿童组中的水平比较

Fig. 1 Distributions of PIVKA-II level in biliary atresia, cholestasis and normal children

二、不同性别患儿 PIVKA-II 水平比较

131 例患儿中,男 56 例(42.7%),女 75 例(57.3%)。PIVKA-II 含量在不同性别患儿中比较无统计学差异(Mann-Whitney U 检验结果显示 $U = 16530, P = 0.1815$)。见图 2。

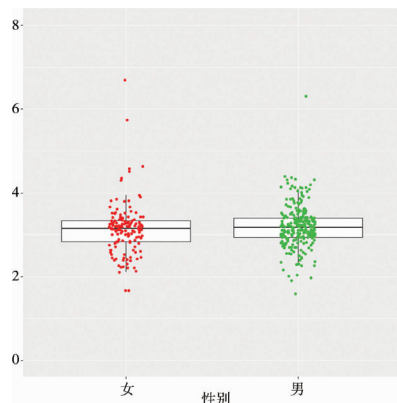


图 2 不同性别胆道闭锁患儿 PIVKA-II 水平比较

Fig. 2 Distribution of PIVKA-II level in two gender groups

三、胆道闭锁手术日龄与 PIVKA-II 水平的关联性分析

将 131 例胆道闭锁患儿按行手术时日龄分为 3 组,其中 30~60 d 组 63 例,60~90 d 组 53 例,>90 d 组 15 例。结果显示,30~60 d 组 PIVKA-II 水平为 29.62(12.66~64.76) mAU/mL;60~90 d 组为 38.94(14.58~114.3) mAU/mL;>90 d 组为 22.13

(13.94~28.17) mAU/mL。3 组间 PIVKA-II 水平比较无统计学差异(Kruskal-Wallis 检验结果显示 $H = 0.595, P = 0.7423$)。见图 3。

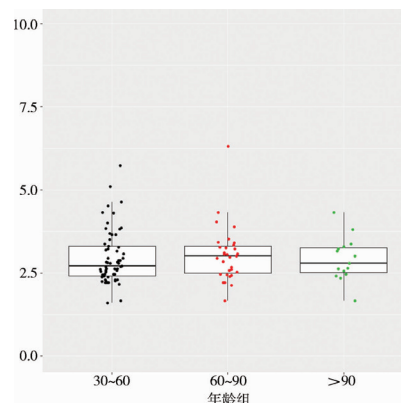


图 3 不同手术日龄患儿的 PIVKA-II 水平

Fig. 3 Levels of PIVKA-II with different operative days

四、PIVKA-II 水平与术前肝功能指标的相关性

随着胆道闭锁患儿年龄的增加,碱性磷酸酶($H = 5.804, P < 0.001$),谷氨酰转移酶($H = 3.876, P = 0.0447$),谷丙转氨酶($H = 7.251, P = 0.0002$)呈逐渐升高的趋势,提示胆道闭锁患儿手术日龄越晚,肝功能损害程度越高(表 1),但谷草转氨酶水平在各个年龄组间比较没有统计学差异($H = 1.229, P = 0.5409$)。

表 1 胆道闭锁患儿不同年龄组间肝功能比较

Table 1 Comparing liver function of different age groups in BA children

组别	总胆红素 (UMOL/L)	直接胆红素 (UMOL/L)	碱性磷酸酶 (IU/L)	谷氨酰转移酶 (U/L)	谷丙转氨酶 (IU/L)	谷草转氨酶 (IU/L)	白蛋白 (G/L)
30~60 d 组 (n=63)	146.7 (116.5~176)	98.5 (80.4~123.7)	482.5 (368.3~593)	374 (237~794.5)	66 (42.3~100)	112 (74~173.5)	38.3 (36.45~40.95)
61~90 d 组 (n=53)	142.7 (128.8~169.3)	95.1 (85.2~116.1)	657 (530~862)	488.5 (246.3~752.8)	80 (58~116)	141 (108~230)	40.8 (38.8~43.1)
>90 d 组 (n=15)	125 (104~202.6)	88.7 (73.5~136)	510 (430.5~605)	628 (450.5~840.5)	89 (65.5~148.5)	157 (129.5~244.5)	41.2 (38.25~42.7)
H 值	8.266	6.955	5.804	3.876	7.251	1.229	2.155
P 值	0.2436	0.8401	<0.001	0.0447	0.0002	0.5409	0.2972

由于胆道闭锁组 PIVKA-II 水平升高较为明显,因此将患儿的血清 PIVKA-II 水平与肝功能指标(总胆红素、直接胆红素、 γ -谷氨酰转移酶、碱性磷酸酶、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、白蛋白)分别进行相关性分析。结果显示 PIVKA-II 与 γ -谷氨酰转移酶、胆红素、肝功能、白蛋白之间无统计学相关性($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 胆道闭锁患儿术前 PIVKA-II 水平与肝功能的相关性

Table 2 Correlation of preoperative PIVKA-II level and liver function in BA children

变量	相关系数(r_s)	P 值
总胆红素	0.04696	0.6310
直接胆红素	0.01633	0.8674
碱性磷酸酶	0.13700	0.1594
谷丙转氨酶	-0.03629	0.7106
谷草转氨酶	0.03441	0.7250
白蛋白	-0.03631	0.7104

五、PIVKA-II 水平与术前凝血指标 PT, INR, PTA, FIB 的相关性

如表 3 所示, Spearman 相关性分析结果表明 PIVKA-II 与 PT(凝血酶原时间)、INR(国际标准化比值)、PTA(凝血酶原活度)、FIB(纤维蛋白原)之间均无统计学相关性。

表 3 PIVKA-II 与 PT, INR, PTA, FIB 的相关性

Table 3 Spearman's correlation analysis of PIVKA-II and PT, INR, PTA and FIB

项目	PT	INR	PTA	FIB
相关系数(r_s)	-0.137	-0.148	0.140	-0.0581
P 值	0.0763	0.0554	0.0693	0.454

六、PIVKA-II 诊断效能分析

使用受试者工作曲线(ROC)评估 PIVKA-II 用于胆道闭锁和胆汁淤积鉴别诊断的价值,求得曲线下面积(AUC)=0.6373。ROC 曲线下所有计算“灵敏度-(1-特异度)”,得到的结果按降序排列后即获得约登指数最大值及其对应的灵敏度与特异度,本研究结果中约登指数为 0.3278。通过约登指数找出最佳临界值为 74.03 mAU/mL,其对应的灵敏度与特异度分别为 97.67% 和 35.11%,阳性似然比为 1.5000,阴性似然比为 0.0600。提示 PIVKA-II 单独诊断胆道闭锁敏感性较高,但特异性欠佳。见图 4。

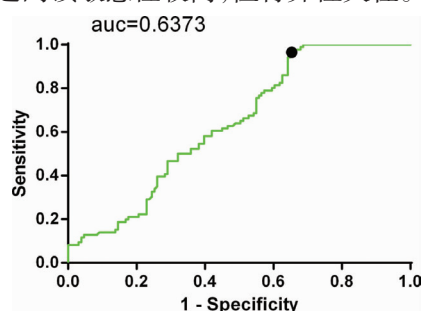


图 4 PIVKA-II 诊断效能的 ROC 曲线 注 图中标记点为根据约登指数计算的最佳临界点

Fig. 4 ROC curve of diagnostic efficacy of PIVKA-II

讨论

胆道闭锁进展过程中,如不能早期行 Kasai 手术,患儿常因肝功能衰竭在 1~2 岁时死亡。目前我国大陆地区胆道闭锁的诊断和治疗流程仍不够规范,按照 2013 年中华医学会新生儿外科学组和小儿肝胆外科学组共同制定的《中国大陆地区胆道闭锁诊断及治疗(专家共识)》,胆道闭锁目前常见的辅助诊断途径包括大便比色卡、B 超、同位素检查等^[1]。而根据国内现状及我国专家共识,若患儿胆

囊穿刺为白色胆汁,且经术中胆道造影提示肝内胆管无显影即可确诊为胆道闭锁。而结合实验室指标变化(如直接胆红素升高超过总胆红素 50% 和显著的 γ -谷氨酰转肽酶升高等)并不能显著提高诊断的特异性及敏感性^[11,15-16]。

PIVKA-II 是一种异常凝血酶原,有文献曾报道可在肝胆疾病患儿血清中检测到高水平的 PIVKA-II^[12]。目前将其作为一种新型肿瘤标记物广泛应用于肝细胞肝癌患儿的早期诊断、预后评估、复发监控等^[9-12]。本研究中,PIVKA-II 水平在胆道闭锁与胆汁淤积组间及胆道闭锁与正常儿童组间均有统计学差异,提示 PIVKA-II 在胆道闭锁的术前诊断中具有一定价值,或可作为一种术前诊断的标志物。按照本研究得到的最佳临界值,即认为 PIVKA-II > 74.03 mAU/mL 时诊断胆道闭锁意义更大。而此时 PIVKA-II 敏感性与特异性分别为 97.67% 和 35.11%,与文献报道 GGT(γ -谷氨酰转氨酶)的鉴别诊断效能相比偏低^[13-16]。有文献指出,PIVKA-II 生成的机制主要包括肝细胞内凝血酶原形成过程中的关键酶(γ -谷氨酸羧化酶)活性降低、机体局部维生素 K 不足及低氧刺激导致细胞骨架及表型的轻微改变影响到 V_k 摄取等^[10]。因此我们有理由认为,胆道闭锁患儿可能因肝功能受损造成生物酶活性降低及合成障碍、机体摄取维生素 K 能力下降等,致使机体凝血酶原合成障碍,从而产生 PIVKA-II。胆道闭锁患儿谷丙转氨酶、碱性磷酸酶及 γ -谷氨酰转氨酶在 3 组不同年龄段患儿中的水平存在一定差异,即胆道闭锁 Kasai 手术前患儿年龄越大,肝功能损害可能越严重,与既往文献报道结果一致^[13]。但 PIVKA-II 水平在各手术日龄组之间比较并无统计学差异,因此有理由认为 PIVKA-II 水平与肝功能损害程度不相关。此外,PIVKA-II 与谷丙转氨酶、谷草转氨酶、碱性磷酸酶、谷氨酰转氨酶及白蛋白之间亦没有统计学相关性,PIVKA-II 与胆道闭锁患儿的病情进展不相关,说明胆道闭锁患儿血清 PIVKA-II 升高可能并非肝功能受损所致。

胆道闭锁患儿往往存在凝血功能异常,表现为凝血酶原时间(PT)延长,凝血酶原活度(PTA)下降,国际标准化比值(INR)指标超出正常值,同时伴随一定程度的纤溶激活^[11,14,15]。据文献报道 PIVKA-II 和 INR 呈线性相关,和 PT、APTT 等其他凝血指标则不相关^[4]。而本研究中 PIVKA-II 与凝血指标并没有统计学相关性,这提示胆道闭锁患儿 PIVKA-II 水平的影响因素可能较多,机体凝血功能异

常只是其中之一。另外,本中心胆道闭锁患儿来自全国各地,在调查病史过程中,家属对既往治疗史、外院病史等信息表达不够清楚,导致研究者在因素分析环节时无法完全排除回忆偏倚造成的信息失真,这可能也是影响本研究结论的潜在因素。

参考文献

- 中华医学会小儿外科分会新生儿外科学组. 中国大陆地区胆道闭锁诊断及治疗(专家共识)[J]. 中华小儿外科杂志, 2013, 34(9): 700-705. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3006.2013.09.014.
Group of Neonatal Surgery, Branch of Pediatric Surgery, Chinese Medical Association. Diagnosis and Treatment of Biliary Atresia in Chinese Mainland (Expert Consensus)[J]. Chin J Ped Sur, 2013, 34(9): 700-705. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3006.2013.09.014.
- Kanazumi N, Takeda S, Inoue S, et al. PIVKA-II during perioperative period in patients with hepato-biliary-pancreatic diseases[J]. Hepato-gastroenterology, 2000, 47(36): 1695.
- Motohara K, Endo F, Matsuda I. Effect of vitamin K administration on acarboxy prothrombin (PIVKA-II) levels in newborns[J]. Lancet, 1985, 2: 242-244.
- Teruya M, Soundar E, Hui SR, et al. PIVKA-II correlates with INR but not protein C or protein S concentrations in cord blood among newborns[J]. J Neonatal Perinatal Med, 2016, 9(2): 139-143. DOI: 10.3233/NPM-16915084.
- Witt M, Kvist N, Järn R, et al. Prophylactic dosing of vitamin K to prevent bleeding[J]. Pediatrics, 2016, 137(5): e20154222. DOI: 10.1542/peds.2015-4222.
- Miyao M, Abiru H, Ozeki M, et al. Subdural hemorrhage: A unique case involving secondary vitamin K deficiency bleeding due to biliary atresia[J]. Forensic Science International, 2012, 221(1-3): e25-e29. DOI: 10.1016/j.forsci.2012.04.018.
- John A, Kim H, Yu SJ, et al. A quantitative analytical method for PIVKA-II using multiple reaction monitoring-mass spectrometry for early diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2017, 409(11): 2829-2838. DOI: 10.1007/s00216-017-0227-8.
- Park SJ, Jang JY, Jeong SW, et al. Usefulness of AFP, AFP-L3, PIVKA-II and their combinations in diagnosing hepatocellular carcinoma[J]. Medicine, 2017, 96(11): e5811. DOI: 10.1097/MD.0000000000005811.
- 席强. 血清 PIVKA-II 和 AFP 联合检测对原发性肝癌的诊断价值[D]. 青岛大学, 2015.
Xi Q. Value of combined detection of serum PIVKA-II and AFP in the diagnosis and treatment of primary liver cancer[D]. Qingdao University, 2015.
- 胡晓菲, 於建鹏, 王钢胜. PIVKA-II 和 AFP 在原发性肝癌中的诊断和疗效监测中的临床应用价值[J]. 临床和实验医学杂志, 2017, 16(15): 1473-1476. DOI: 10.3969/j.issn.1671-4695.2017.15.006.
Hu XF, Yu JP, Wang GS. Clinical application value of PIVKA-II and AFP in the diagnosis and therapeutic monitoring of primary liver cancer[J]. Journal of Clinical & Experimental Medicine, 2017, 16(15): 1473-1476. DOI: 10.3969/j.issn.1671-4695.2017.15.006.
- 方燕彬, 李索林, 徐伟立. 先天性胆道闭锁发病机制的研究进展[J]. 中华肝胆外科杂志, 2014, 20(8): 612-616. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2014.08.017.
Fang YB, Li SL, Xu WL. Research advances in the pathogenesis of congenital biliary atresia[J]. Chinese Journal of Hepatobiliary Surgery, 2014, 20(8): 612-616. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2014.08.017.
- Kondo Y, Kimura O, Shimosegawa T. Significant biomarkers for the management of hepatocellular carcinoma[J]. Clinical Journal of Gastroenterology, 2015, 8(3): 109-115. DOI: 10.1007/s12328-015-0568-9.
- Liu CS, Chin TW, Wei CF. Value of gamma-glutamyl transpeptidase for early diagnosis of biliary atresia[J]. Chinese Medical Journal, Free China Ed, 1998, 61(12): 716-720.
- Elguindi MA, Sira MM, Sira AM, et al. Design and validation of a diagnostic score for biliary atresia[J]. Journal of Hepatology, 2014, 61(1): 116-123. DOI: 10.1016/j.jhep.2014.03.016.
- Sun S, Chen G, Zheng S, et al. Analysis of clinical parameters that contribute to the misdiagnosis of biliary atresia[J]. Journal of Pediatric Surgery, 2013, 48(7): 1490-1494. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2013.02.034.
- Cabrera-Abreu JC, Green A. Gamma-glutamyltransferase: value of its measurement in paediatrics[J]. Annals of Clinical Biochemistry, 2002, 39(Pt1): 22. DOI: 10.1258/0004563021901685.

(收稿日期: 2018-07-07)

本文引用格式: 裴家好, 陈功, 郑珊, 等. PIVKA-II 对胆道闭锁的诊断价值及其与肝功能的相关性研究[J]. 临床小儿外科杂志, 2018, 17(11): 809-813. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2018.11.003.

Citing this article as: Pei JH, Chen G, Zheng S, et al. Diagnostic value of PIVKA-II for biliary atresia and its correlations with liver functions[J]. J Clin Ped Sur, 2018, 17(11): 809-813. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2018.11.003.