

# 维生素 K 缺乏或拮抗剂诱导的蛋白-II 在非婴儿获得性维生素 K 依赖性凝血因子缺乏症中的诊断意义

王静 吴天勤 任传路 沈红石 陈海飞 余自强 王兆钺

**【摘要】** 目的 探讨维生素 K 缺乏或拮抗剂诱导的蛋白-II (PIVKA-II) 在非婴儿获得性维生素 K 依赖性凝血因子缺乏症 (ADVCKF) 中的诊断价值。方法 对临床确诊的 50 例 ADVCKF 患者采用 ELISA 法检测治疗 0、3、7 d 的血浆中 PIVKA-II 水平,同时分析不同时间点凝血常规和凝血因子促凝活性,并以 20 例健康体检者作为对照。结果 患者 PIVKA-II 水平为  $(3.83 \pm 1.40) \mu\text{g/L}$ ,健康对照组为  $(1.30 \pm 0.54) \mu\text{g/L}$ ,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),患者接受维生素 K 治疗 3 d 后其值与治疗前相比差异无统计学意义 [ $(3.83 \pm 1.40) \mu\text{g/L}$  比  $(3.79 \pm 0.66) \mu\text{g/L}$ ,  $P > 0.05$ ],7 d 后其值降低但仍高于对照组水平。近期输注血浆组 PIVKA-II 水平为  $(3.78 \pm 1.30) \mu\text{g/L}$ ,同未输注组 [ $(3.91 \pm 1.49) \mu\text{g/L}$ ] 相比,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。治疗前患者凝血因子 II、VII、IX 及 X 活性明显降低 (3.68% ~ 12.28%),而凝血酶原时间 (PT)、APTT 明显延长 ( $> 100$  s),治疗 1 周后基本恢复正常。结论 ADVCKF 患者血浆 PIVKA-II 的水平升高,维生素 K 治疗 1 周后其值仍高于正常人的水平,且不受血浆输注的影响,PIVKA-II 较凝血常规、凝血因子活性检测更为灵敏,具有早期辅助诊断本病的价值。

**【关键词】** 凝固蛋白紊乱; 获得性维生素 K 依赖性凝血因子缺乏症; 维生素 K 缺乏或拮抗剂诱导的蛋白; 凝血指标

**The diagnostic value of protein induced by vitamin K absence or antagonist-II in non-infant patients with acquired deficiency of vitamin K-dependent coagulation factors** Wang Jing, Wu Tianqin, Ren Chuanlu, Shen Hongshi, Chen Haifei\*, Yu Ziqiang, Wang Zhaoyue. \* Department of Hematology, 100th Hospital of PLA, Suzhou 215007, China

Corresponding author: Chen Haifei, Email: chhf1224@163.com

**【Abstract】 Objective** To explore the diagnostic value of protein induced by vitamin K absence or antagonist - II (PIVKA - II) in non-infant with acquired deficiency of vitamin K-dependent coagulation factors (ADVCKF). **Methods** PIVKA - II levels were measured by ELISA in 50 patients with ADVCKF on day 0, 3, 7 after vitamin K treatment. Prothrombin time (PT), APTT, FII : C, FVII : C, FIX : C, and FX : C were analyzed simultaneously. Twenty healthy subjects were enrolled as controls. **Results** The average level of PIVKA - II in ADVCKF group was  $(3.83 \pm 1.40) \mu\text{g/L}$ , while  $(1.30 \pm 0.54) \mu\text{g/L}$  in the control group ( $P < 0.05$ ). The PIVKA - II levels on day 0 and 3 did not show significant difference [ $(3.83 \pm 1.40) \mu\text{g/L}$  vs  $(3.79 \pm 0.66) \mu\text{g/L}$ ,  $P > 0.05$ ], but decreasing significantly on day 7 compared to the control group ( $P < 0.05$ ). The PIVKA - II level was  $(3.78 \pm 1.30) \mu\text{g/L}$  in patients receiving plasma transfusion, while  $(3.91 \pm 1.49) \mu\text{g/L}$  in no-plasma-transfusion group ( $P > 0.05$ ). Coagulation factors II, VII, IX and X activity which decreased significantly before treatment returned to normal range after one week use of vitamin K, leading to complete correction of prolonged APTT and PT ( $> 100$  seconds). **Conclusions** The PIVKA - II level in ADVCKF patients is significantly higher than that of healthy subjects within one week treatment of vitamin K, which is not influenced by plasma transfusion. This study suggests that PIVKA - II is a more sensitive parameter than APTT, PT and the activity of coagulation factor, which could be a valuable factor in the early diagnosis of ADVCKF.

DOI:10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2014.02.007

作者单位:215007 苏州,解放军第一〇〇医院血液科 南京军区血液肿瘤治疗中心(王静、吴天勤、沈红石、陈海飞),检验科(任传路);苏州大学附属第一医院 江苏省血液研究所(陈海飞、余自强、王兆钺)

通信作者:陈海飞,Email:chhf1224@163.com

**【Key words】** Coagulation protein disorders; Acquired deficiency of vitamin K-dependent coagulation factors; Protein induced by vitamin K absence or antagonist; Coagulation parameter

非婴儿获得性维生素 K 依赖性凝血因子缺乏症 (ADVCKF) 是由于体内维生素 K 绝对缺乏或利用障碍,引起凝血因子 II、VII、IX、X 的促凝活性下降,代之以维生素 K 缺乏或拮抗剂诱导的蛋白-II (Protein induced by vitamin K absence or antagonist-II, PIVKA-II) 水平升高,并导致以全身自发性出血为特征的临床表现。关于 PIVKA-II 在非婴儿 ADVCKF 中的诊断意义未见相关报道,本研究收集了 50 例确诊的病例资料进行实验室分析,报道如下。

### 资料和方法

1. 病例资料:2011 年 1 月至 2012 年 6 月就诊于解放军第一〇〇医院确诊的 50 例非婴儿 ADVCKF 患者,平均年龄 38.2(2.4~88.0)岁,其中男 31 例,女 19 例。选择 20 例同期就诊于解放军第一〇〇医院的正常体检者为对照。患者临床特点:(1)全身不同部位自发性出血,其中皮肤黏膜瘀点瘀斑 42 例(84%),血尿 35 例(70%),口腔牙龈出血 15 例(30%),鼻衄 11 例(22%),黑便 12 例(24%),月经增多 7 例(14%),腹腔出血伴休克 1 例(2%),颅内出血 1 例(2%);(2)其中 16 例患者在外院行血浆输注治疗后就诊于我院。

2. 诊断依据:(1)临床诊断均符合 ADVCKF<sup>[1]</sup>;(2)凝血酶原时间(PT)、APTT 延长,凝血酶时间(TT)、纤维蛋白原(Fib)和 D-二聚体(D-DI)正常;凝血因子 II、VII、IX、X 促凝活性(FII:C、FVII:C、FIX:C、FX:C)下降;(3)血液中均检测到香豆素类抗凝血杀鼠药,其中大隆 3 例,溴敌隆 46 例,二者混合中毒 1 例(上海司法鉴定科学技术研究所,司法鉴定中心毒物检测);(4)维生素 K 和血浆治疗有效。

3. PIVKA-II 及凝血指标的检测:(1)通过

ELISA 分别检测 50 例患者治疗前、治疗后第 3 和 7 天,及 20 例正常对照样本的血浆 PIVKA-II 含量。ELISA 试剂盒:抗人 PIVKA-II (Cusabio 公司, Catalog No. CSB-E 13343h),检测范围:0.312~20 μg/L。(2)在上述各个时间点同时进行凝血常规项目(PT、APTT、TT、Fib、D-DI)检测;治疗前和治疗后第 7 天检测 FII:C、FVII:C、FIX:C 和 FX:C。

4. 治疗:患者确诊后给予维生素 K 的序贯治疗<sup>[2]</sup>,合并颅内出血、失血性休克等致死性出血患者同时给予新鲜血浆或凝血酶原复合物治疗 1~3 d。总疗程约 3~22 个月。

5. 统计学处理:采用 SPSS 13.0 统计软件处理数据,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,患者治疗前后凝血功能指标、凝血因子水平及 PIVKA-II 的比较采用配对 *t* 检验,治疗组与对照组计量资料的比较采用方差分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 结 果

1. 凝血常规、凝血因子促凝活性和 PIVKA-II 水平的检测:50 例患者 TT、Fib、D-DI 均正常。患者治疗前 PT 达 (101.23 ± 33.61) s, APTT 达 (131.87 ± 46.01) s,维生素 K 治疗 3 d 后 PT、APTT 均显著缩短 ( $P < 0.05$ ),1 周后 PT 为 (16.56 ± 6.59) s, APTT 为 (40.57 ± 6.87) s,基本恢复正常。凝血因子 II、VII、IX 及 X 的活性在治疗前明显降低,治疗 7 d 后显著升高 ( $P < 0.05$ ),其活性平均达 70% 以上。

PIVKA-II 在治疗前为 (3.83 ± 1.40) μg/L,治疗 3 d 时其值与治疗前差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),但 7 d 后明显降低 ( $P < 0.05$ ,表 1)。

2. 治疗组与对照组 PIVKA-II 水平的比较:患者治疗前 PIVKA-II 含量为 (3.83 ± 1.40) μg/L,正常对照组 PIVKA-II 为 (1.30 ± 0.54) μg/L,两组差

表 1 50 例 ADVCKF 患者治疗前后凝血功能、凝血因子和 PIVKA-II 的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

时间	PT(s)	APTT(s)	FII:C(%)	FVII:C(%)	FIX:C(%)	FX:C(%)	PIVKA-II(μg/L)
治疗前	101.23 ± 33.16	131.87 ± 46.01	3.68 ± 2.03	8.64 ± 5.12	12.28 ± 8.90	5.76 ± 2.43	3.83 ± 1.40
治疗后 3 d	32.53 ± 16.63 <sup>a</sup>	62.58 ± 17.68 <sup>a</sup>	-	-	-	-	3.79 ± 0.66
治疗后 7 d	16.56 ± 6.59	40.57 ± 6.87	73.23 ± 21.23 <sup>a</sup>	89.58 ± 26.68 <sup>a</sup>	76.56 ± 27.97 <sup>a</sup>	81.32 ± 25.58 <sup>a</sup>	1.83 ± 0.71 <sup>a</sup>
<i>t</i> 值	12.52	9.81	2.24	14.90	10.95	14.70	0.251
<i>P</i> 值	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.821

注:ADVCKF:获得性维生素 K 依赖性凝血因子缺乏症;PIVKA-II:维生素 K 缺乏或拮抗剂诱导的蛋白-II;PT:凝血酶原时间;FII:C:凝血因子 II 促凝活性;FVII:C:凝血因子 VII 促凝活性;FIX:C:凝血因子 IX 促凝活性;FX:C:凝血因子 X 促凝活性;与治疗前比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$

异有统计学意义( $P < 0.05$ )。治疗 3 d 时其值无显著下降,但 7 d 后 PIVKA-II 明显降低但仍未恢复至正常水平( $P < 0.05$ )(表 1、2)。

表 2 ADVKCF 患者治疗前后与正常对照者 PIVKA-II 比较( $\mu\text{g/L}$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	治疗前	治疗后 3 d	治疗后 7 d
患者组	50	3.83 ± 1.40	3.79 ± 0.66	1.83 ± 0.71
对照组	20	1.30 ± 0.54	1.30 ± 0.54	1.30 ± 0.54
<i>t</i> 值		7.82	12.37	3.00
<i>P</i> 值		0.00	0.00	0.00

注:ADVCF:获得性维生素 K 依赖性凝血因子缺乏症;PIVKA-II:维生素 K 缺乏或拮抗剂诱导的蛋白-II

3. 血浆输注组与未输组 PT、APTT 和 PIVKA-II 的比较:50 例患者中有 16 例在外院行血浆输注(具体数据不详),但未接受维生素 K 治疗。维生素 K 治疗前,血浆治疗组患者同未输注血浆患者相比其 PT、APTT 均值明显缩短( $P < 0.05$ ),但 PIVKA-II 平均含量在两组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ , 表 3)。

表 3 血浆输注组与未输注组 ADVKCF 患者治疗前 PT、APTT 和 PIVKA-II 比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	PT(s)	APTT(s)	PIVKA-II ( $\mu\text{g/L}$ )
血浆输注组	16	16.53 ± 2.38	40.87 ± 10.90	3.78 ± 1.30
血浆未输注组	34	134.12 ± 22.65	161.76 ± 32.37	3.91 ± 1.49
<i>t</i> 值		20.60	19.54	0.30
<i>P</i> 值		0.00	0.04	0.77

注:ADVCF:获得性维生素 K 依赖性凝血因子缺乏症;PIVKA-II:维生素 K 缺乏或拮抗剂诱导的蛋白-II;PT:凝血酶原时间

4. 治疗效果:所有患者接受静脉滴注维生素 K1 治疗后,出血症状在 1~2 d 内明显改善,未出现过过敏反应。1 周后改口服维生素 K 5~10  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  维持,监测凝血功能和凝血因子,根据患者凝血常规的恢复情况给予逐渐减量。随访患者中 1 例因再次误食杀鼠药病情复发,其余患者均治愈。

## 讨 论

ADVCF 是由于维生素 K 绝对缺乏或利用障碍,导致机体凝血异常和自发性的出血倾向。引起维生素 K 缺乏的原因主要有:先天性因素、摄入不足、肠道吸收不良、肠道合成减少、拮抗剂中毒以及严重的肝病等<sup>[1]</sup>。通过详细的病史询问及相关辅助检查可明确上述病因,而本组患者均排除了此类常见的病因,并经毒物检测明确为香豆素类抗凝血

杀鼠药中毒。

维生素 K 依赖性的凝血因子 II、VII、IX、X,以及蛋白 C(PC)、蛋白 S(PS)和蛋白 Z(PZ)在肝脏内合成,需要在  $\gamma$ -谷氨酰羧化酶(GGCX)的作用下羧基化,羧化过程中维生素 K 作为 GGCX 的辅酶发挥重要作用。羧基化反应后,维生素 K 被氧化为环氧化物形式,在维生素 K 环氧化物还原酶(VKOR)的作用下还原,继续循环利用<sup>[2-5]</sup>。香豆素类药物的作用位点即为 VKOR,使得维生素 K 的还原受抑<sup>[6-7]</sup>,体内维生素 K 水平降低。维生素 K 的缺乏除了导致凝血因子的活性降低外,还代之合成无  $\gamma$ -羧基化的异常维生素 K 依赖性凝血因子 PIVKA-II。研究表明 ELISA 检测 PIVKA-II 可直接评价体内维生素 K 的水平<sup>[8]</sup>。

PIVKA-II 半衰期与凝血因子 II 相同,均为 3 d 左右,因此在维生素 K 治疗前及治疗 3 d 内其指标明显升高,检测 PIVKA-II 水平有助于本病的早期诊断。我们的结果表明患者经维生素 K 治疗后,PIVKA-II 蛋白含量有所下降,3 d 后为(3.79 ± 0.66)  $\mu\text{g/L}$ ,与治疗前[(3.83 ± 1.40)  $\mu\text{g/L}$ ]相比,差异无统计学意义;治疗 1 周后显著下降,但仍高于正常对照组[(1.30 ± 0.54)  $\mu\text{g/L}$ ]水平,而 PT、APTT、FII:C、FVII:C、FIX:C、和 FX:C 在治疗 1 周后均值逐渐恢复正常。因此在诊断上,PIVKA-II 较凝血时间和凝血因子更加灵敏。Dituri 等<sup>[9]</sup>2012 年亦报道,PIVKA-II 较 PT 更加敏感,能够辅助诊断婴儿亚临床维生素 K 缺乏,与本研究在非婴儿患者中的研究结果一致。

更为重要的是,由于本病容易误诊,病因不明确,多数患者在初诊时就接受了血浆制品的输注,使其凝血因子的水平得到不同程度的恢复,PT、APTT 也不同程度的得到纠正,常规的凝血指标甚至相关的凝血因子活性检测缺乏典型病例的特点,在这种情况下 PIVKA-II 检测的价值愈发凸显。在外院经过血浆制品输注的 16 例患者其 PT、APTT 得到暂时性的部分甚至完全纠正,而其 PIVKA-II 水平与未输注组相比差异无统计学意义。表明 PIVKA-II 不受血浆制品输注的影响,有助于本病的诊断。

除本病外,在肝脏疾病(包括肝硬化、原发性肝癌、转移性肝癌等)患者中 PIVKA-II 水平呈不同程度地升高。Beale 等<sup>[10]</sup>比较了 41 例肝硬化和 50 例肝癌患者的血清 PIVKA-II 水平,分别为(23.47 ± 59.69)  $\mu\text{g/L}$  和(135.17 ± 168.96)  $\mu\text{g/L}$ ;Lee 等<sup>[11]</sup>检测 115 例肝癌患者 PIVKA-II 均值为 231AU/L

(20 ~ 2000 AU/L) (该研究中 1 AU = 0.019  $\mu\text{g}$ ); Bae 等<sup>[12]</sup>对 354 例肝癌患者分析, PIVKA-II 取 40 AU/L 为诊断界值, 其值大于 300 AU/L 时, 肝外转移的风险显著增加; PIVKA-II 和 AFP-L3 联合测定能够提高肝细胞癌的诊断率<sup>[13]</sup>。其他疾病如吸收不良、慢性肾脏病血液/腹膜透析的患者<sup>[14-15]</sup>, 亦伴有维生素 K 缺乏, 其血浆 PIVKA-II 水平升高。因此, PIVKA-II 水平增高并非本病的特异性指标, 仍需结合病史、临床表现和辅助检查仔细鉴别。

综上所述, 在 ADVKCF 患者中血浆 PIVKA-II 的水平升高, 在维生素 K 治疗 1 周后, 其值仍高于正常人的水平, 较常规凝血时间、凝血因子活性检测更为灵敏; 且不受血浆输注的影响, 能够准确反映体内维生素 K 缺乏的程度。因此, PIVKA-II 受相关治疗因素、治疗时间的影响较小, 具有早期辅助诊断本病的价值。本病维生素 K 补充治疗的疗程较长, 在随访中监测 PIVKA-II 可能有助于指导用药剂量和治疗的维持时间。

#### 参 考 文 献

- [1] Weston BW, Monahan PE. Familial deficiency of vitamin K-dependent clotting factors [J]. *Haemophilia*, 2008, 14: 1209-1213.
- [2] 陈海飞, 金玲娟, 吴天勤, 等. 获得性依赖维生素 K 凝血因子缺乏症患者 42 例临床分析 [J]. *中华内科杂志*, 2011, 50: 68-69.
- [3] 陈海飞, 唐杰庆, 金玲娟, 等. 成人获得性依赖维生素 K 凝血因子缺乏症的维生素 K 的序贯治疗 [J]. *中国医师杂志*, 2011, 13: 1414-1416.
- [4] Wu S, Liu S, Oavis CH, et al. A hetero-dimer model for concerted action of vitamin K carboxylase and vitamin K reductase in vitamin K cycle [J]. *J Theor Biol*, 2011, 279: 143-149.

- [5] Napolitano M, Mariani G, Lapecorella M. Hereditary combined deficiency of the vitamin K-dependent clotting factors [J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2010, 5: 21.
- [6] Rishavy MA, Usualieva A, Hallgren KW, et al. Novel insight into the mechanism of the vitamin K oxidoreductase (VKOR): electron relay through Cys43 and Cys51 reduces VKOR to allow vitamin K reduction and facilitation of vitamin K-dependent protein carboxylation [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286: 7267-7278.
- [7] Gong IY, Schwarz UI, Crown N, et al. Clinical and genetic determinants of warfarin pharmacokinetics and pharmacodynamics during treatment initiation [J]. *PLoS One*, 2011, 6: e27808.
- [8] Crosier MD, Peter I, Booth SL, et al. Association of sequence variations in vitamin K epoxide reductase and gamma-glutamyl carboxylase genes with biochemical measures of vitamin K status [J]. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 2009, 55: 112-119.
- [9] Dituri F, Buonocore G, Pietravalle A, et al. PIVKA-II plasma levels as markers of subclinical vitamin K deficiency in term infants [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2012, 25: 1660-1663.
- [10] Beale G, Chattopadhyay D, Gray J, et al. AFP, PIVKAI, GP3, SCCA-1 and follistatin as surveillance biomarkers for hepatocellular cancer in non-alcoholic and alcoholic fatty liver disease [J]. *BMC Cancer*, 2008, 8: 200.
- [11] Lee YK, Kim SU, Kim do Y, et al. Prognostic value of  $\alpha$ -fetoprotein and des- $\gamma$ -carboxy prothrombin responses in patients with hepatocellular carcinoma treated with transarterial chemoembolization [J]. *BMC Cancer*, 2013, 13: 5.
- [12] Bae HM, Lee JH, Yoon JH, et al. Protein induced by vitamin K absence or antagonist-II production is a strong predictive marker for extrahepatic metastases in early hepatocellular carcinoma: a prospective evaluation [J]. *BMC Cancer*, 2011, 11: 435.
- [13] 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: 339-346.
- [14] Stankowiak-Kulpa H, Krzyzanowska P, Kozioł L, et al. Vitamin K status in peritoneally dialyzed patients with chronic kidney disease [J]. *Acta Biochim Pol*, 2011, 58: 617-620.
- [15] Cranenburg EC, Schurgers LJ, Uiterwijk HH, et al. Vitamin K intake and status are low in hemodialysis patients [J]. *Kidney Int*, 2012, 82: 605-610.

(收稿日期: 2013-05-30)

(本文编辑: 沈锡宾)

#### 招募复发难治的慢性淋巴细胞白血病和小淋巴细胞性淋巴瘤患者

慢性淋巴细胞白血病是一种无法治愈的成人惰性白血病; 小淋巴细胞性淋巴瘤被认为是与慢性淋巴细胞白血病有相同的发病机制的一种疾病。年轻或健康状况较好的需治疗的慢性淋巴细胞白血病患者的一线标准治疗是化学免疫治疗, 特别是氟达拉滨和环磷酰胺与利妥昔单抗联合给药。然而, 老年患者以及存在伴随疾病的患者往往无法耐受上述方案。氟达拉滨治疗无效或 2 年内疾病进展的患者在接受现有治疗方案时, 其疗效较差。目前一项治疗复发或难治的慢性淋巴细胞白血病或小淋巴细胞性淋巴瘤患者的临床研究, 已经获得国家食品药品监督管理局批准启动并正在北京大学人民医院开展。本研究将评价一种研究药物和利妥昔单抗用于复发或难治的慢性淋巴细胞白血病或小淋巴细胞性淋巴瘤患者的疗效。如果您或者您的亲友患有复发或难治的慢性淋巴细胞白血病或小淋巴细胞性淋巴瘤, 可考虑参加此项研究。

重要入选条件: (1) 诊断为慢性淋巴细胞白血病或者小淋巴细胞性淋巴瘤, 体能状态较好的患者; (2) 既往曾经接受过治疗但是有复发或治疗无效; (3) 年龄  $\geq 18$  岁。以上为部分重要入选标准, 最终是否能入选由项目医生判定。

招募期限: 即日起至 2015 年 10 月底 (招满即止)

联系电话: 400-630-2633, 010-88325229 (9:00—17:00, 周一至周五)