
Autoantikroppsbestämningar vid reumatiska sjukdomar

TIMO K. WALLE OCH AARO MIETTINEN

Autoantikroppar förekommer som ett normalt, oftast övergående fenomen hos annars friska människor. När de uppträder i samband symtom på bindvävssjukdomar kan de däremot anses höra till sjukdomsförloppet och har då stor betydelse när sjukdomens diagnos skall specificeras, för uppföljningen av sjukdomen och tidvis också för prognosen. Man bör dock alltid beakta att inte ens specifika autoantikroppar innebär sjukdom utan att antikroppsfyndets relevans bör bedömas utgående från den kliniska bilden och andra diagnostiska kriterier. Till de diagnostiskt viktigaste autoantikropparna hör kärnantikroppar, DNA-antikroppar och fosfolipidantikroppar vid SLE, SS-A/Ro och SS-B/La och kärnantikroppar vid Sjögrens syndrom, den kliniskt längst kända autoantikroppstypen reumafaktorn, keratinantikroppar (filaggrinantikroppar) vid reumatoid artrit och Scl-70- och andra kärnantikroppar vid systematisk sklerodermi.

Autoimmunitet är ett fysiologiskt fenomen. Autoantikroppar, såsom reumafaktorn eller kärnantikroppar förekommer övergående hos normalbefolkningen i anslutning till olika inflammationer. Vid autoimmunsjukdomar är antikropparna i allmänhet bestående och deras halt klart högre än de fysiologiska halterna. Vid vissa autoimmunsjukdomar förekommer för sjukdomen typiska autoantikroppar av orsaker man inte känner till, och detta kan utnyttjas i diagnostiken. Det är dock viktigt att komma ihåg att till och med de bästa autoimmunbestämningarnas resultat endast stöder en klinisk diagnos och inte lämpar sig för sållning. Även om ett test till 99 procent vore specifikt, vilket sällan är fallet, är största delen positiva fynd "falska" när man undersöker normalbefolkningen (Tabell I). Det diagnostiska värdet med ett test kommer fram först när man med kliniska kriterier kommit till misstanke om en sjukdom.

I det följande presenterar vi vår uppfattning om dagens situation inom autoantikroppsdiagnostiken vid systemiska reumatiska sjukdomar. Vi ger siffror på förekomsten av autoantikroppar vid olika sjukdomar, men det är skäl att förhålla sig kritisk till dessa. De grundar sig på undersökningar med olika metoder, och resul-

FÖRFATTARNA

Timo K. Walle är specialläkare vid Avdelningen för immunologi vid HUCS-laboratoriediagnostik.

Aaro Miettinen är docent i immunologi och överläkare vid Avdelningen för immunologi vid HUCS-laboratoriediagnostik.

TABELL I. *Inverkan av sjukdomens prevalens på antikroppsbestämningsresultatets prognosvärde*

Sjukdomens prevalens, %	Prognosvärde av positivt test ¹ , %
0,1	9,0
1,0	50,0
2,0	66,9
5,0	83,9
50,0	99,0

¹Testets specificitet 99 procent. Se Galen R.S. och Gambino S.R. Beyond normality. The predicted value and efficiency of medical diagnosis. New York 1975. John Wiley & Sons.

taten kan inte nödvändigtvis generaliseras för den finländska befolkningen. De diagnostiska kriterierna för många reumatiska sjukdomar är oklara. Dessutom har bara få autoantikroppstester internationellt avtalade standarder. Olika laboratoriers svar är alltså inte direkt jämförbara.

Tabell II summerar uppgifterna om förkortningar och termer behandlats i denna artikel.

SYSTEMISK LUPUS ERYTHEMATOSUS

Systemisk lupus erythematosus (SLE), lupus erythematosus disseminatus (LED), är en systemisk autoimmunsjukdom, som karak-

TABELL II. *Förkortningar och termer som används i denna artikel*

Förkortning eller term	Förklaring
ANCA, ANC-antikroppar	Antikroppar mot cytoplasmat i neutrofiler (antineutrophil cytoplasmic antibodies)
C-ANCA	Cytoplasmisk ANCA
CREST-syndrom	Calcinosis, Raynaud's phenomenon, esophageal dysmotility, sclerodactyly and teleangiectasias-syndrom
DM	Dermatomyosit
dsDNA	Dubbelsträngat eller nativ DNA
EIA	Enzymimmunologisk teknik
ENA	Lösliga kärnproteiner; extractable nuclear antigens
Fibrillarin	U3-RNP; nukleolärt autoantigen vid systemisk sklerodermi
IB	Immunblotting
IF	Immunfluorescens teknik
IP	Immunprecipitationsteknik
Jo-1-antikroppar	Histidyl-tRNA-syntetasantikroppar i myositdiagnostiken
LE-celler	Granulocyter som fagocyterat andra celler
MCTD	Mixed connective tissue disease
MPO	Myeloperoxidas; den viktigaste P-ANCA-specifiteten vid vaskuliter
P-ANCA	Perinukleär ANCA
PBC	Primär biliär cirrhos
PCNA	Proliferating cell nuclear antigen; kärnantikropps specifitet vid SLE
PM	Polymyosit
PM-Scl	Nukleolär autoantigen vid SSc och SSc/PM-överlapps syndrom
Pr3	Proteinas-3; den viktigaste C-ANCA-specifiteten vid vaskuliter
RF	Reumafaktor, antikropp mot IgG-molekylens konstanta del
RIA	Radioimmunologisk teknik
Scl-70	Skleroderma-70-antigen; DNA topoisomeras I
SLE	Systemisk lupus erythematosus
Sm	Smith-antigen; cellkärnans små ribonukleoproteiner; autoantigen vid SLE
snRNP	Små ribonukleoproteiner i cellkärnan
SS	Sjögrens syndrom
SS-A, SS-A/Ro	Ett av de lösliga kärnproteinerna; autoantigen vid Sjögren syndrom och SLE
SS-B, SS-B/La	Ett av de lösliga kärnproteinerna; autoantigen vid Sjögren syndrom och SLE
SSc	Systemisk sklerodermi
ssDNA	Enkelsträngat eller denaturerat DNA
U1-RNP, U1-snRNP	Cellkärnans små ribonukleoproteiner; autoantigen vid MCTD, (SLE och SSc)
U3-RNP	Fibrillarin i nukleolen
VDRL-test	Veneral Disease Research Laboratory test för syfilisdiagnostik
Waller-Rose	Metod för påvisning av reumafaktor

TABELL III. De viktigaste autoantikropparna vid SLE

Antikropp/autoantigen	Positiva patienter, %	Viktigaste metoder
Kärnantikroppar	>95	IF (Hep-2-celler), EIA
Nukleosom/kromatin		
Histon	50–75 (läkemedelslupus > 90)	EIA, IB
dsDNA	40–70	IF, EIA, RIA/Farr
ssDNA	70	EIA, RIA, (RIA/Farr)
SS-A/Ro	25–60 (primärt SSc 80–96)	IP, EIA, IB
SS-B/La	10–35 (primärt SSc 70–90)	IP, EIA, IB
U1-RNP	30–40 (MCTD nästan 100)	IP, EIA, IB
Sm	15–30	IP, EIA, IB
Ribosomala P-proteiner	10–20	IB
PCNA	3	IP, EIA, IB
Fosfolipidantikroppar	25–60	
Falskt positivt VDRL	25	Agglutination
Kardiolin IgG-ak/ β 2-glykoprotein-I-ak	25–60	EIA
Lupus antikoagulant	10	Tester för koagulationstiden

Förkortningar: IF, immunfluorescenssteknik; EIA, enzymimmunologisk teknik; IB, immunoblotting; RIA, radioimmunologisk teknik; IP, immunprecipitationsteknik; SS, Sjögrens syndrom; MCTD, mixed connective tissue disease. Se också förklaringarna i Tabell II.

teriseras av ökad lymfocytaktivitet och talrika autoantikroppar av klass IgG. Sjukdomens etiologi är fortfarande okänd och sjukdomsbilden varierar avsevärt. Sjukdomens prevalens i Finland har uppskattats till 28/100000. Merparten av patienterna är kvinnor. I diagnostiken av sjukdomen används American College of Rheumatologys (ACR) 11 diagnostiska kriterier [1]. Sjukdomen anses säker när fyra kriterier fylls i förloppet. Ett av kriterierna är positiva kärnantikroppar, mätta med en metod som ger < 5 procent positiva i normalbefolkningen. Ett annat immunologiskt kriterium utgörs av DNA-antikroppar, Sm-antikroppar, LE-celler eller "falskt" positivt VDRL-test. När bättre behandlingsformer utvecklas blir tidig diagnostik allt viktigare.

Autoantikropparna vid SLE kan betraktas som antikroppar mot apoptotiska cellstrukturer. Vissa riktar sig mot nukleosomer/kromatin [2] och andra mot antigener i apoptotiska cellers ytvesikler [3]. Till de förstnämnda hör bl.a. DNA-histonkomplex, dubbelsträngat DNA (ds- eller nativ), enkelsträngat DNA (ss- eller denaturerat) samt histoner. Till de sistnämnda hör sura fosfolipider samt flera lösliga kärnproteiner (extractable nuclear antigens, ENA). Enligt en hypotes saknar SLE-patienterna tolerans för antigener i apoptotiska celler. I anslut-

ning till apoptosen spjälkas kromosomerna till nukleosomer. Vesikler bildas på celllytan där fosfolipider, bl.a. fosfatidylserin och -kolin, från cellmembranets inre lipid-skikt kommer ut på membranets yttersida, och ENA-ribonukleoproteiner ackumuleras i vesiklerna.

Kärnantikropsbestämning med immunfluorescenssteknik (IF) är ett gott sällningstest när SLE misstänks hos en patient, vars symtom tyder på sjukdomen. Mer än 95 procent av patienterna har kärnantikroppar; när de saknas borde andra sjukdomar misstänkas (Tabell III). När antikropparna undersöks med odlade celler är färgningsmönstret i allmänhet homogent eller fläckigt och titern typiskt hög (≥ 1280). Hos merparten av patienterna med aktiv sjukdom konstateras DNA-antikroppar, som kan undersökas med RIA-metoden (Farr-metoden), IF (*Crithidia luciliae*-protozons kinetoplast) eller med enzymimmunologiska metoder (EIA). Vid SLE-glomerulonefrit är DNA-antikropparna typiska och kan vara viktiga för patogenesen. dsDNA-antikroppar av IgG-klass i hög titer är i det närmaste specifika för SLE. Antikroppar mot ssDNA påträffas ännu oftare, men de förekommer också vid andra sjukdomar. IF-testet är det mest specifika av dsDNA-testerna, men Farr-bestämningen är mer kvan-

titativ. Den lämpar sig bättre än IF-testet för uppföljning av sjukdomens aktivitet. Höga DNA-antikroppstitrar, i synnerhet om komplementnivåerna sjunker, tyder på aktivering av sjukdomen [4]. När man följer förändringar i antikroppshalterna borde de jämförda proven dock vara tagna med högst tre månaders intervall. Patienten har även antikroppar mot alla histoner, i synnerhet H1-histon och (H2A-H2B)-DNA-komplex [5]. Histonantikroppar påträffas även vid andra autoimmunsjukdomar, i synnerhet vid läkemedelsinducerad lupus (t.ex. av prokainamid, D-penicillamin, karbamazepin) [6, 7]. Histonantikroppar undersöks med EIA-teknik eller immunoblottingtekniker, men man är inte enig om vad som är bäst. Kromatinantikroppss-EIA har kommit ut på marknaden och kan vara bra även för att påvisa histonantikroppar.

Sm-antikroppar är ENA-antikroppar som reagerar med kärnans små ribonukleoproteiner (snRNP). De är specifika för SLE men de påträffas bara hos en liten del av patienterna. Patienterna har även andra snRNP-antikroppar såsom U1-RNP-antikroppar (70 kDa) [8]. Vid s.k. mixed connective tissue disease (MCTD) har nästan alla patienter U1-RNP-antikroppar [9]. Antikroppar mot ribosomernas sura fosfoproteiner (ribosomala R-proteiner, P0-P2) är nästan specifika för SLE och förekommer i synnerhet vid neuropsykiatriska sjukdomsbilder (50-90 procent) [10].

SLE-patienterna har antikroppar mot SS-A/Ro- (60 kDa och 52 kDa) och SS-B/La-ribonukleoproteiner. SS-A-antikroppar påträffas framför allt vid subakut hudlupus, ljusöverkänslighet och neonatallupus (> 90 procent). Moderns autoantikroppar av IgG-klass kan passera placentan till fostret. Man tänker sig att SS-A- och SS-B-antikroppar som passerat till fostret är orsaken till s.k. neonatallupus, i värsta fall får fostret retledningsskador i hjärtat och totalt block [11]. Modern kan ha SLE eller Sjögrens syndrom men inte nödvändigtvis några symtom alls trots antikroppar [12]. SS-B-antikroppar finns hos 10-35 procent av alla SLE-patienter men hos 75 procent av patienterna med neonatallupus. De förekommer alltid tillsammans med SS-A-antikroppar. Däremot kan SS-A-antikroppar förekomma vid SLE utan SS-B-antikroppar. Hos dessa patienter kan man inte alltid påvisa kärnantikroppar med IF-metoder. PCNA (proliferating cell nuclear antigen) påträffas hos

c. 3 procent av SLE-patienter och knappast alls vid andra sjukdomar [8]. Även flera andra kärnantikroppar utanför rutindiagnostiken påträffas hos patienterna.

SLE-patienterna har ofta s.k. fosfolipidantikroppar mot sura fosfolipider och med dem förbundna proteinkomplex. Sådana proteiner är β 2-glykoprotein I (ApoH) och protrombin. Kardiolipin/ β 2-glykoprotein I-antikroppar kan påvisas med EIA-test hos c. 25-60 procent av patienterna. En del av fosfolipidantikropparna konstateras med s.k. lupusantikoagulanstest och en del av dem reagerar med VDRL-antigenet som används i syfilisdiagnostiken och ger då ett s.k. "falskt" positivt utslag [13] (Tabell III). SLE-patienternas fosfolipidantikroppar kan även reagera med oxiderat LDL [14]. Lupusantikoagulanten blockerar blodkoagulationen in vitro, men vid primärt och sekundärt fosfolipidantikroppssyndrom [15] in vivo är antikropparna förknippade med återkommande trombotiser och missfall [16]. SLE-patienterna har även rikligt med andra autoantikroppar. Bland annat reagerar en del med ytan på endotelceller, lymfocyter, neutrofiler, trombocyter eller erythrocyter. Alla dessa kan vara viktiga i patogenesen, men för närvarande är det bara de erythrocyt-antikroppar, som konstateras med Coombs test och ger autoimmun hemolytisk anemi, som är viktiga i den praktiska diagnostiken.

SJÖGRENS SYNDROM

Sjögrens syndrom (SS) är en kronisk autoimmun sjukdom som orsakar körtelin-sufficiens, i synnerhet i spott- och tårkört-larna. Den kan vara primär eller sekundärt knyta till andra autoimmuna sjukdomar, såsom reumatoid artrit (20-30 procent), SLE (20 procent) och systemisk sklerodermi (20 procent). Sjukdomen kan diagnostiseras med hjälp av s.k. EU-kriterier, men internationellt är man inte helt enig om de diagnostiska kriterierna. EU-kriterierna omfattar ögon- och munsymtom samt objektiva fynd i tårkörtlarnas och spottkörtlarnas funktion samt i histopatologin. Av de immunologiska fynden hör SS-A/Ro- eller SS-B/La-antikroppar samt kärnantikroppar eller reumafaktorn till kriterierna. För diagnosen primärt SS krävs att fyra av sex kriterier fylls och vissa andra tillstånd kan uteslutas. Sekundärt SS kan diagnostiseras om patienten har en autoimmun

sjukdom samt därutöver ett symtom och minst två objektiva fynd. Av patienterna är 90 procent kvinnor. Sjukdomens prevalens ökar med åldern. Enligt EU-kriterier lider så många som 2,7 procent av personer över 50 år av sjukdomen [17]. I diagnostiken är det bra att komma ihåg att vissa infektioner, såsom hepatit C och HIV, kan orsaka siccasyndrom.

Hos SS-patienterna är kärnantikroppar vanliga (> 90 procent), likaså RF-antikroppar (> 70 procent) [8] (Tabell III). Av kärnantikropparna förekommer framför allt SS-A- och SS-B-antikroppar rikligt, och vid primärt SS hålls antikroppstitrarna tämligen oförändrade långa tider. Vid SS påträffas i allmänhet båda antikropparna. På antikropparnas prevalens inverkar den teknik med vilken de undersöks. I den "klassiska" ENA-bestämningen används en relativt okänslig immunoprecipitationsteknik. Kvalitativa och kvantitativa EIA-tekniker är känsligare men i motsvarande grad mindre specifika. Med immunoblottingteknik kan vissa SS-A-antikroppar inte alls påvisas.

Vid primärt SS har antikroppar beskrivits mot antigener i spottkörtelgångarna såsom a-fodriner på 120 kDa [18], a-amylas och kolsyreanhydras. Att undersöka spottkörtelantikroppar med immunfluorescentsteknik har dock inte visat sig vara till nytta i diagnostiken. Fodrin är ett intracellulärt aktinbindande protein som kanske är viktigt i sekretionen. Vid primärt SS förekommer i det autonoma nervsystemet antikroppar mot receptorer av muskarintyp som är mycket intressanta med tanke på keratoconjunctivitis sicca och xerostomi. Dessa kan inhibera eller ibland stimulera körtelceller och därmed minska eller öka spottutsöndringen [19]. Fodrin- och receptorantikroppar undersöks än så länge inte rutinmässigt. SS-mödrars antikroppar kan orsaka fostret en likadan neonatallupus med totalblock som SLE-mödrars antikroppar. Skadorna är förknippade med förekomst av SS-A- och SS-B-antikroppar, men också muskarinreceptorantikroppar som passerar placentan tillsammans med dessa kan ha betydelse för uppkomsten av retledningsskada.

POLYMYOSIT OCH DERMATOMYOSIT

Idiopatiska inflammatoriska myopati bildar en heterogen sjukdomsgrupp, som karakteriseras av muskelsvaghet på grund av kronisk muskelinflammation. Patienterna

har ofta även systemsymtom, bl.a. från hud, lungor, hjärta och tarmar. Sjukdomarna är sällsynta; deras incidens har uppskattats till 5–10 fall per en miljon om året. Till sjukdomsgruppen hör bl.a. polymyosit (PM), dermatomyosit (DM) och "inclusion body"-myosit. Det råder oenighet om sjukdomarnas diagnostiska kriterier [20]. De flesta PM- och DM-patienter har kärnantikroppar (60–90 procent) [8]. Patienterna har även "myositspecifika" antikroppar. Ungefär en tredjedel av PM-patienterna har antikroppar mot aminosyre-tRNA-syntetasenzymer som är typiska för myositer. Histidyl-tRNA-syntetasantikroppar (s.k. Jo-1-antikroppar) är de vanligaste av syntetasantikropparna, men även antikroppar mot alanyl- (PL-12), isoleucyl- (OJ), treonyl- (PL-7) och glycylyl-tRNA-syntetas (EJ) har beskrivits [21]. Jo-1-antikropparna kommer fram i en vanlig ENA-undersökning, men de kan undersökas med en känsligare specifik EIA- eller IB-metod. Patienter som har aminosyretRNA-antikroppar har ofta även interstiella lungförändringar. Hos 20 procent av DM-patienterna påträffas s.k. Mi-2-kärnantikroppar. Hos DM- och PM-patienter förekommer även antikroppar som reagerar med cytoplasmiska signaligenkänningspartiklar som kan påvisas med IB-undersökning [22].

REUMATOID ARTRIT

Reumatoid artrit är en kronisk erosiv artrit med okänd etiologi. Dess prevalens i Finland är hos kvinnor 1,5 procent och hos män c. 0,5 procent. En typisk reumatoid artrit kan diagnostiseras genom den kliniska bilden. Autoantikropsbestämningar kan dock vara till nytta som stöd för diagnostiken vid atypiska sjukdomsformer eller i tidiga stadier, då en typisk sjukdomsbild ännu inte utvecklats. Till de diagnostiska kriterierna för reumatoid artrit (ACR 1987, 23] hör reumafaktorn (RF), enligt vars förekomst reumatoid artrit indelas i en seropositiv (c. 80–90 procent) och en seronegativ form. Hos en del av patienterna med reumatoid artrit (30–80 procent beroende på metoden) förekommer även s.k. filaggrinantikroppar [24–26], som är bekanta från tidigare som keratin- och perinukleärfaktorantikroppar (för enkelhetens skull avses här med filaggrinantikroppar även dessa). Både seropositivitet och förekomst av filaggrinantikroppar har rapporterats vara för-

TABELL IV. De viktigaste autoantikropparna vid systemisk sklerodermi

Antikropp/autoantigen	Förekomst	Metod
Kärnantikroppar	> 95 %	IF
Centromer (Cenp-A, -B, -C)	20–30 % systemisk sklerodermi 70–96 % CREST-syndrom 10–30 % PBC 25 % Raynauds symtom	IF, IB, EIA
Scl-70/Topoisomeras I	20–60 % systemisk sklerodermi, i synnerhet diffus form, lungengagemang	EIA, IB
RNAP I, II och III	4–25 % systemisk sklerodermi, i synnerhet diffus form, njurengagemang	IB (IF nukleolär/fläckig)
Fibrillarin (U3-RNP)	3–8 %	IB (IF nukleolär)
PM-Scl	2–5 % systemisk sklerodermi 25 % PM/systemisk sklerodermi "overlap"	IB (IF nukleolär)

Förkortningar: PBC, primär biliär cirrhos. Se också Tabell II beträffande metoderna.

enade med en svårare sjukdomsbild vid reumatoid artrit. Det har visats att filaggrinantikroppar, liksom även RF, förekommer redan innan klara kliniska symtom bryter ut [27, 28]. Filaggrinantikroppar förekommer även vid seronegativ sjukdom, vilket ökar deras diagnostiska värde.

RF är en antikropp mot IgG-molekylens konstanta del. Den beskrevs redan 1940, när man fann att serum från patienter med reumatoid artrit agglutinerade fårerytocyter som behandlats med immunserum. Något modifierad är denna metod (Waalserose) fortfarande i bruk för att påvisa reumafaktorn jämsides med tester som baserar sig på latexagglutination där humant IgG används som antigen. Numera har nefelometrisk och turbidometrisk metod, som bättre kan kvantiteras, blivit vanliga och RF-testresultatet ges i allmänhet i internationella enheter (IU), som baserar sig på WHO:s standardserum. På marknaden finns också EIA-metoder, med vilka man separata kan undersöka och kvantitera reumafaktorer enligt vilken immunglobulin-klass de tillhör. En RF-test godkänns, oberoende av metod, som diagnostiskt kriterium av ACR om den ger ett positivt resultat hos högst 5 procent i en kontrollpopulation. Höga RF-nivåer är förknippade med reumatoid artrit och andra systemiska (och organspecifika) autoimmunsjukdomar (t.ex. SLE, autoimmuna leversjukdomar). Övergående kan reumafaktornivån stiga även till följd av infektioner. Specificiteten för

reumatoid artrit är större med höga reumafaktortitrar dock på bekostnad av känsligheten. Specificiteten stiger också om man förutom sedvanlig RF av IgM-klass konstaterar reumafaktorer av andra immunglobulin-klasser. Reumafaktorns affinitet är också i allmänhet högre vid reumatoid artrit en t.ex. vid infektioner.

En mycket mer specifik markör för reumatoid artrit än reumafaktorn är filaggrinantikropparna. Deras autoantigener utgörs åtminstone av (pro)filaggriner i epidermis, i synnerhet deras epitoper som innehåller modifierade aminosyror (citrullin) [29, 30]. Dessa antikroppar kan undersökas med immunfluorescens med antingen fryssnitt av råttesofoagus (keratinantikroppar) eller epitelceller från human kindslemhinna (perinukleärfaktorantikroppar) som antigen. Keratinantikroppar förekommer hos 30–60 procent av reumatikerna, specificiteten är enligt olika studier 90–99 procent [31]. Förekomsten av perinukleära antikroppar är 50–90 procent vid reumatoid artrit och specificiteten 70–99 procent [24]. De perinukleära antikropparnas sensitivitet är således större när de är som bäst, men variationen även i specificitet är stor mellan olika laborier förmodligen på grund av tekniska svårigheter. Numera hör keratin- och/eller perinukleärantikropparna till speciallaboratoriernas rutin. I framtiden torde olika metoder med filaggrin eller syntetiska peptider (citrullinpeptider) som antigen komma upp parallellt med dem.

Även en mängd autoantikroppar har beskrivits vid reumatoid artrit. Kärnantikroppar finns ofta i låg titer och kliniskt användbara specifika kärnantikroppstest är för närvarande inte tillgängliga. Antikroppar mot olika antigener i synovialvävnad och brosk (bl.a. typ II kollagen) har beskrivits, men deras betydelse i den reumatoida artritens patogenes och diagnostik är än så länge oklara. Enligt vissa undersökningar skulle anti-Sa [32, 33] och anti-RA33 [34] vara specifika markörantikroppar för reumatoid artrit.

SYSTEMISK SKLERODERMI (SKLERODERMA)

Systemisk sklerodermi (SSc) är en sjukdom av okänd etiologi som fibrotiserar hud och inälvor och är förknippad med HLA- och andra genetiska associationer och immunologiska avvikelser på ett för autoimmunsjukdomar typiskt sätt. Enligt förändringarna i huden och de inre organen kan skleroderma indelas i en diffus och i en perifert begränsad form (CREST-syndrom). I den diffusa formen är också de visceral manifestationerna mer omfattande och prognosen i allmänhet sämre. Om sklerodermans incidens har mycket kontroversiella uppskattningar framförts, men den torde ligga omkring 5–20 nya fall per miljoner invånare och år; därmed torde åtminstone svårare former vara sällsynta. Det typiska för sjukdomen är specifika kärnantikroppar [35, 36], såsom centromer- och nukleolantikroppar som kommer fram i IF-test. Olika antikroppsspecificiteter korrelerar med sjukdomsbilden och exkluderar ofta varandra. Individuella HLA-associationer har beskrivits för dem. I diagnostiken, klassifikationen och bedömningen av sjukdomsförloppet kan sålunda kärnantikroppar och deras specificitet vara till nytta (Tabell IV). Eftersom sjukdomen är så sällsynt, kan alla antikroppsspecificiteter dock inte undersökas rutinmässigt, hur väl de än är beskrivna.

Med IF-undersökning med HEP-2-celler kan man lätt identifiera höga titrar av centromerantikroppar, som förekommer hos c. 20–30 procent av patienterna med SSc och de flesta med CREST-syndrom. Vid SSc har centromerantikropparna beskrivits vara förknippade med en bättre prognos. Dessutom förekommer centromerantikroppar vid primärt Raynauds syndrom. En liten del av

dessa kan senare utvecklas till SSc, vars första symtom Raynaud ofta är. Även vid primär biliär cirrhos (PBC) påträffas centromerantikroppar. Vid SSc påträffas å andra sidan också antikroppar, som är typiska för PBC, mot pyruvatdehydrogenasets E-komponent hos c. 7 procent. Man har misstänkt att något slags överlappande syndrom existerar. Det är sällan nödvändigt att undersöka centromerantikroppar med någon specifik metod än IF, men också t.ex. goda immunoblotting- och EIA-metoder för att påvisa av Cenp-A och Cenp-B-antikroppar finns på marknaden.

Den kanske viktigaste av de specifika autoantikropsundersökningarna vid SSc är bestämningen av skleroderma-70-antikroppar (Scl-70-ak), vars antigen är DNA-topoisomeras I (Tabell IV). Scl-70-antikropparna associeras med sjukdomens diffusa form och lungfibros, som anses vara en viktig faktor som inverkar på prognosen. De kvantitativa och kvalitativa EIA-metoder som är i bruk för bestämning av Scl-70-antikroppar är välfungrande. Antikropparna har använts bl.a. som för att förutsäga om Raynauds symtom utvecklas till SSc samt i diagnostiken och prediktionen av lungfibros. I IF-undersökningen med Hep-2-celler ger Scl-70-antikropparna som ett blandad mönster, där man utöver en nukleolär färgning urskiljer en fingranulär och/eller homogen kärnfärgning.

RNA-polymeraser (RNAP-I, -II och -III) är centrala autoantigener vid SSc. I synnerhet RNAP-I- och RNAP-III-antikroppar, som ofta förekommer tillsammans eller korsreagerar [37], har visats vara specifika för SSc. Det har också hävdats att de är associerade i synnerhet med sjukdomens diffusa form, med njuraffektion och med en allmänt sämre prognos. I synnerhet hos dem som inte befinner sig ha Scl-70-antikroppar påträffas RNAP-I- och/eller RNAP-III-antikroppar. Även RNAP-II-antikroppar förekommer vid SSc, men deras betydelse är ännu bristfälligt känd. RNAP-antikropparna ger i en IF-undersökning med Hep-2-celler antingen enbart en nukleolär färgning (RNAP-I) eller ett fingranulärt fläckigt mönster, ofta båda. Bestämning av specifika RNAP-antikroppar hör inte längre till rutindiagnostiken.

U3-RNP (fibrillarin) är ett nukleolärt autoantigen med association till SSc. Fibrillariantikroppar förekommer hos 3–8 procent av SSc-patienterna och de har sagts korre-

lera med ett allvarigare sjukdomsförlopp, pulmonal hypertension och omfattande visceral förändringar. Med känsliga immunoblottingmetoder har dessa antikroppar hävdats förekomma avsevärt oftare.

PM-Scl-antikroppar, som ger nukleolär färgning av Hep-2-celler, förekommer hos några procent vid skleroderma eller dermatomyosit/polymyosit. De förekommer klart oftare vid overlapsyndromet som är förenat med polymyosit och skleroderma. Vid SSc förekommer hos några procent i åtminstone vissa etniska grupper även U1-RNP-antikroppar. I allmänhet är de dock associerade med MCTD och SLE såsom ovan konstaterats.

AUTOANTIKROPPSBESTÄMNINGAR I DIAGNOSTIKEN AV VASKULITER

Vaskuliter kan vara förknippade med andra autoimmunsjukdomar (RA, SLE, SSc) eller förekomma som primära vaskulitsyndrom [38]. De viktigaste autoantikropsundersökningarna i vaskulitdiagnostiken är bestämning av RF, DNA-antikroppar, glomerulusbasalmembransantikroppar och antikroppar mot cytoplasma-antigen i neutrofiler (antineutrophil cytoplasmic antibodies, ANCA). Dessutom hör bestämning av kryoglobulin till basundersökningarna vid vaskuliter associerade med infektioner och autoimmunsjukdomar.

ANC-antikropparna beskrevs redan i början av 80-talet och sedan dess har deras eventuella betydelse i patogenesen och diagnostiken av vaskuliter undersökts livligt [39, 40]. Även om ANC-antikropparnas roll i patogenesen fortfarande är oklar, är nyttan av dem i diagnostiken av småkärlsvaskuliter och glomerulonefrit obestridlig. ANCA beskrevs ursprungligen med en fortfarande ibrukvarande IF-metod, där man med etanolfixerade neutrofila granulocyter kan särskilja två färgningsmönster: ett perinukleärt (P-ANCA) och ett cytoplasmiskt (C-ANCA). Antigenerna är komponenter av monocytens och neutrofilernas lysosomer, av vilka de starkt katjoniska till följd av etanolfixeringen utbreder sig perinukleärt och de svagt katjoniska finns spridda i cytoplasmat. Utöver de ovannämnda P- och C-ANCA-typerna kan även olika atypiska ANCA-figurer urskiljas. C-ANC-antikropparnas antigen är i allmänhet proteinas-3 (Pr3). P-ANC-antikropparnas antigen kan vara bl.a. myeloperoxidase (MPO), elastas, ka-

tepsin G, azurocidin, laktoferrin, lysozym och BPI (bactericidal/permeability-increasing factor). Dessutom kan kärnantikroppar ibland simulera P-ANCA i IF-undersökningar och ge falska positiva fynd. Av denna orsak undersöks kärnantikroppar även med Hep-2-celler och/eller neutrofilantikroppar i formalinfixering i anslutning till P-ANCA-fynd vid en IF-undersökning. Av specifika ANC-antikroppar är för närvarande Pr3- och MPO-antikropparna till praktisk diagnostisk nytta. För att påvisa och kvantitera dessa finns goda kommersiella EIA-tester. Det har uppskattats att över 90 procent av C-ANCA-fynden har anti-Pr3 och över 90 procent av P-ANCA-fynden har anti-MPO som specificitet hos vaskulitpatienter [41].

Pr3-antikroppar förekommer hos merparten (55–96 procent) av dem som lider av Wegeners granulomatos. På förekomsten inverkar sjukdomens form (generaliserad/begränsad) och sjukdomens aktivitet. Antikropsnivån korrelerar ofta med sjukdomens aktivitet, behandlingens effektivitet och förutsäger eventuella relaps. Då och då förekommer Pr3-antikroppar även vid mikroskopisk polyangit och MPO-antikroppar vid Wegeners granulomatos, ofta tillsammans med den mera typiska ANCA-specificiteten vid respektive syndrom. Även vid Churg-Strauss-syndromet har ANC-antikroppar beskrivits, till och med Pr3- och MPO-antikroppar. Dessa associationer är dock inte lika klara, och resultaten mellan olika studier är kontroversiella. ANCA-antikroppar förekommer även vid basalmembranssjukdom tillsammans med typiska glomerulusbasalmembranantikroppar (typ IV kollagenets NC1-del av $\alpha 3$ -kedjan).

ANC-antikroppar, som i allmänhet har en annan specificitet än för MPO eller Pr3, har beskrivits vid flera andra sjukdomar så som reumatoid artrit, SLE, inflammatoriska tarmsjukdomar, skleroserande kolangit, autoimmun hepatit, läkemedelsinducerad vaskulit och vid vissa infektioner. För diagnostiken av vaskulit är det därför viktigt att, förutom IF-tester, också undersöka förekomsten av Pr3 och MPO-antikroppar varvid resultaten kompletterar varandra. Specifika ANC-antikroppar har stort prognostiskt värde vid enskilda vaskulitsyndrom endast om de korreleras med karakteristiska symtom [42]. Efter hand som kunskapen ökar, kan diagnostiken av de reumatiska sjukdomarna berikas av nya, kliniskt användbara ANCA-specificiteter.

OM KÄRNANTIKROPPSUNDERSÖKNINGAR

Många nya EIA-baserade tester för kärnantikroppsundersökningar har kommit ut på marknaden. Ännu i dag är den "klassiska" kärnantikroppsbestämningen med odlade celler till kostnads/nyttoförhållandet det bästa sållningstestet vid misstanke om reumatiska sjukdomar [43–46]. Utöver antikropps-nivån (titern) ger färgningsmönstret preliminära vinkar om antikropparnas specificitet. Ett "homogent" färgningsmönster kan tyda på att antikropparna är riktade mot DNA, histoner eller kärnmembranet. De flesta s.k. ENA-antikroppar (bl.a. RNP, Sm, SS-A/Ro, SS-B/LA och Scl-70), men även många mindre kända antikroppar ger ett "fläckigt" färgningsmönster. Starka nukleolantikroppar är ofta förknippade med systemisk sklerodermi medan centromerantikroppar är typiska för CREST-syndrom vid systemisk sklerodermi och även Raynauds syndrom, vilket framhölls ovan. Om kärnantikroppar inte kommer fram i en sållning, är SLE ganska osannolikt. Ett undantag utgör atypisk hudlupus, där patienterna huvudsakligen kan ha SS-A/Ro-antikroppar. De polymyositassocierade t-RNA-syntetasantikropparna (t.ex. Jo-1) kommer inte heller fram som kärnantikroppar. Svaga (titern ≤ 320) antikroppar förekommer övergående bl.a. i anslutning till inflammationer varför det är skäl att kontrollera dem t.ex. efter ett halvt år. Vid reumatoid artrit och kroniskt trötthetssyndrom kan signifikanta kärnantikroppars titrer vara låga (≤ 80). Vid systemiska autoimmunsjukdomar är antikropps-nivån annars i allmänhet hög och deras nivå varierar inte särskilt mycket med sjukdomens aktivitet. Det är värt att försöka utreda signifikanta kärnantikroppars specificitet. Utöver dsDNA- och histonantikroppar är det skäl att göra en ENA-sållning antingen med IP- eller kvalitativ EIA-teknik eller semikvantitativa EIA-tekniker (t.ex. Scl-70-antikroppar). Antikroppars specificitet kan analyseras noggrannare även med IB-teknik. Där kan man bl.a. särskilja t.ex. 60 kDa och 52 kDa SS-A/Ro-antikroppar samt antikropparna mot ribosomala P-proteiner som är viktiga i SLE-diagnostiken.

Många av autoantikropparnas antigener har identifierats på molekylnivå, deras gener har klonats och proteiner kan produceras industriellt. Detta har möjliggjort planeringen av nya tester och leder kanske redan

i en nära framtid till mer exakta diagnostiska metoder.

DR TIMO K WALLE
DOCENT AARO MIETTINEN
AVDELNINGEN FÖR IMMUNOLOGI
HUCS-LABORATORIEDIAGNOSTIK
HAARTMANGS GATAN 3
00290 HELSINGFORS

REFERENSER

1. Tan EM, Cohen AS, Fries JF et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982;25:1271–7.
2. Burlingame RW, Boey ML, Starkebaum G, Rubin RL. The central role of chromatin in autoimmune responses to histones and DNA in systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 1994;94:184–92.
3. Casciola-Rosen LA, Anhalt G, Rosen A. Autoantigens targeted in systemic lupus erythematosus are clustered in two populations of surface structures on apoptotic keratinocytes. *J Exp Med* 1994;179:1317–30.
4. Swaak AJ, Aarden RE, Statius van Eps LW, Feltkamp TE. Anti-dsDNA and complement profiles as prognostic guides in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1979;22:226–35.
5. Cohen MG, Pollard KM, Webb J. Antibodies to histones in systemic lupus erythematosus: prevalence, specificity, and relationship to clinical and laboratory features. *Ann Rheum Dis* 1992;51:61–6.
6. Portanova JP, Arndt RE, Tan EM, Kotzin BL. Anti-histone antibodies in idiopathic and drug-induced lupus recognize distinct intrahistone regions. *J Immunol* 1987;138:446–51.
7. Rubin RL, Bell SA, Burlingame RW. Autoantibodies associated with lupus induced by diverse drugs target a similar epitope in the (H2A-H2B)-DNA complex. *J Clin Invest* 1992;90:165–73.
8. Tan EM. Antinuclear antibodies: diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology. *Adv Immunol* 1989;44:93–151.
9. Sharp GC, Irvin WS, May CM et al. Association of antibodies to ribonucleoprotein and Sm antigens with mixed connective-tissue disease, systemic lupus erythematosus and other rheumatic diseases. *N Engl J Med* 1976;295:1149–54.
10. Arnett FC, Reveille JD, Moutsopoulos HM, Georgescu L, Elkon KB. Ribosomal P autoantibodies in systemic lupus erythematosus. Frequencies in different ethnic groups and clinical and immunogenetic associations. *Arthritis Rheum* 1996;39:1833–9.
11. Lockshin MD. Lupus pregnancies and neonatal lupus. *Springer Semin Immunopathol* 1994;16:247–59.
12. Julkunen H, Kurki P, Kaaja R et al. Isolated congenital heart block. Long-term outcome of mothers and characterization of the immune response to SS-A/Ro and to SS-B/La. *Arthritis Rheum* 1993;36:1588–98.
13. Petri M, Rheinschmidt M, Whiting-O'Keefe Q, Hellmann D, Corash L. The frequency of lupus anticoagulant in systemic lupus erythematosus. A study of sixty consecutive patients by activated partial thromboplastin time, Russell viper venom time, and anticardiolipin antibody level. *Ann Intern Med* 1987;106:524–31.
14. Vaarala O, Alftan G, Jauhiainen M, Leirisalo-Repo M, Aho K, Palosuo T. Crossreaction between antibodies to oxidized low-density lipoprotein and to cardiolipin in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1993;341:923–5.
15. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. *Arthritis Rheum* 1999;42:1309–11.
16. Cines DB, McCrae KR. The antiphospholipid-protein syndrome. *J Clin Immunol* 1995;15:86S–100S.
17. Konttinen YT, Kontio R, Nordström DC, Hietanen J, Malmström M. Sjögrenin oireyhtymä. *Suom Lääkäril* 1999;54:3061–73.
18. Haneji N, Nakamura T, Takio K et al. Identification of alpha-fodrin as a candidate autoantigen in primary Sjögren's

- syndrome. *Science* 1997;276:604-7.
19. Fox RI, Tornwall J, Maruyama T, Stern M. Evolving concepts of diagnosis, pathogenesis, and therapy of Sjogren's syndrome. *Curr Opin Rheumatol* 1998;10:446-56.
 20. Medsger TA, Jr., Oddis CV. Classification and diagnostic criteria for polymyositis and dermatomyositis. *J Rheumatol* 1995;22:581-5.
 21. Rider LG, Miller FW. Laboratory evaluation of the inflammatory myopathies. *Clin Diagn Lab Immunol* 1995;2:1-9.
 22. Targoff IN, Johnson AE, Miller FW: Antibody to signal recognition particle in polymyositis. *Arthritis Rheum* 1990;33:1361-70.
 23. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988;31:315-24.
 24. Hoet RM, Boerbooms AM, Arends M, Ruiters DJ, van Venrooij WJ. Antiperinuclear factor, a marker autoantibody for rheumatoid arthritis: colocalisation of the perinuclear factor and profilaggrin. *Ann Rheum Dis* 1991;50:611-8.
 25. Simon M, Girbal E, Sebbag M et al. The cytokeratin filament-aggregating protein filaggrin is the target of the so-called "antikeratin antibodies," autoantibodies specific for rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 1993;92:1387-95.
 26. Vincent C, de Keyser F, Masson-Bessiere C, Sebbag M, Veys EM, Serre G. Anti-perinuclear factor compared with the so called "antikeratin" antibodies and antibodies to human epidermis filaggrin, in the diagnosis of arthritides. *Ann Rheum Dis* 1999;58:42-8.
 27. Kurki P, Aho K, Palosuo T, Heliovaara M. Immunopathology of rheumatoid arthritis. Antikeratin antibodies precede the clinical disease. *Arthritis Rheum* 1992;35:914-7.
 28. Paimela L, Gripenberg M, Kurki P, Leirisalo-Repo M: Antikeratin antibodies: diagnostic and prognostic markers for early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1992;51:743-6.
 29. Schellekens GA, de Jong BA, van den Hoogen FH, van de Putte LB, van Venrooij WJ. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1998;101:273-81.
 30. Girbal-Neuhauser E, Durieux JJ, Arnaud M et al. The epitopes targeted by the rheumatoid arthritis-associated anti-filaggrin autoantibodies are posttranslationally generated on various sites of (pro)filaggrin by deimination of arginine residues. *J Immunol* 1999;162:585-94.
 31. Vincent C, Serre G, Lapeyre F et al. High diagnostic value in rheumatoid arthritis of antibodies to the stratum corneum of rat oesophagus epithelium, so-called 'antikeratin antibodies'. *Ann Rheum Dis* 1989;48:712-22.
 32. Despres N, Boire G, Lopez-Longo FJ, Menard HA. The Sa system: a novel antigen-antibody system specific for rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1994;21:1027-33.
 33. Hayem G, Chazerain P, Combe B et al. Anti-Sa antibody is an accurate diagnostic and prognostic marker in adult rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1999;26:7-13.
 34. Hassfeld W, Steiner G, Hartmuth K et al. Demonstration of a new antinuclear antibody (anti-RA33) that is highly specific for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1989;32:1515-20.
 35. von Muhlen CA, Tan EM. Autoantibodies in the diagnosis of systemic rheumatic diseases. *Semin Arthritis Rheum* 1995;24: 323-58.
 36. Okano Y. Antinuclear antibody in systemic sclerosis (scleroderma). *Rheum Dis Clin North Am* 1996;22:709-35.
 37. Kuwana M, Okano Y, Kaburaki J, Medsger TA, Jr., Wright TM. Autoantibodies to RNA polymerases recognize multiple subunits and demonstrate cross-reactivity with RNA polymerase complexes. *Arthritis Rheum* 1999;42:275-84.
 38. Jennette JC, Falk RJ, Andrassy K et al. Nomenclature of systemic vasculitides. Proposal of an international consensus conference. *Arthritis Rheum* 1994;37:187-92.
 39. Gross WL, Csernok E. Immunodiagnostic and pathophysiologic aspects of antineutrophil cytoplasmic antibodies in vasculitis. *Curr Opin Rheumatol* 1995;7:11-9.
 40. Hoffman GS, Specks U. Antineutrophil cytoplasmic antibodies. *Arthritis Rheum* 1998;41:1521-37.
 41. Jennette JC, Falk RJ. Small-vessel vasculitis. *N Engl J Med* 1997;337:1512-23.
 42. Savige J, Gillis D, Benson E et al. International Consensus Statement on Testing and Reporting of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies (ANCA). *Am J Clin Pathol* 1999;111:507-13.
 43. Emlen W, O'Neill L. Clinical significance of antinuclear antibodies: comparison of detection with immunofluorescence and enzyme-linked immunosorbent assays. *Arthritis Rheum* 1997;40:1612-8.
 44. Bayer PM, Bauerfeind S, Bienvenu J et al. Multicenter evaluation study on a new HEp2 ANA screening enzyme immune assay. *J Autoimmun* 1999;13:89-93.
 45. Olausson E, Rekvig OF. Screening tests for antinuclear antibodies (ANA): Selective use of central nuclear antigens as a rational basis for screening by ELISA. *J Autoimmun* 1999;13:95-102.
 46. Reisner BS, DiBlasi J, Goel N. Comparison of an enzyme immunoassay to an indirect fluorescent immunoassay for the detection of antinuclear antibodies. *Am J Clin Pathol* 1999;111:503-506.