วารสาร
เทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด
JOURNAL OF MEDICAL TECHNOLOGY AND PHYSICAL THERAPY

บทความปริทัศน์
REVIEW ARTICLE

# แอนติบอดีต่อนิวเคลียสที่สำคัญทางคลินิกในปัจจุบัน

วิญญู วงศ์ประทุม[1*]

Received: *September 28, 2017*
Revised: *March 13, 2018*
Accepted: *March 14, 2018*

**บทคัดย่อ**

แอนติบอดีต่อนิวเคลียส หรือ LE factor ในอดีตเมื่อกว่า 60 ปีที่ผ่านมาถือเป็นภูมิต้านทานต่อตัวเองชนิดหนึ่งที่เป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อโรคตามอวัยวะต่าง ๆ มากมาย อาทิ ในโรค SLE ซึ่งแต่เดิมมีความเข้าใจโดยทั่วไปว่าหมายถึงกลุ่มแอนติบอดีต่อของตัวเองเฉพาะในส่วนต่าง ๆ ที่อยู่ในนิวเคลียส แต่ในปัจจุบันข้อมูลการตรวจทางคลินิกมากขึ้น ได้รวมเอาแอนติบอดีต่อสารต่าง ๆ บริเวณไซโตพลาสมของเซลล์ตามอวัยวะต่าง ๆ เข้าไปด้วย โดยในส่วนที่มีความสำคัญและนำไปใช้ประโยชน์เพื่อประกอบการวินิจฉัย รักษา และพยากรณ์โรครูมาติกที่พบบ่อย ได้แก่ Anti-dsDNA Ab ออโต้แอนติบอดีในกลุ่ม Anti-ENA Ab โดยเฉพาะ Anti-Sm Ab Anti-U1-RNP Ab Anti-SSA/Ro Ab Anti-SSB/La Ab Anti-centromere Ab และ Anti Scl-70 Ab และสำหรับออโต้แอนติบอดีต่อสารในไซโตพลาสมที่สำคัญ ได้แก่ Anti-Ribosomal P Ab Anti-Jo-1 Ab Anti-Mitochondria Ab และ Anti-Actin Ab แอนติบอดีเหล่านี้มีลักษณะและองค์ประกอบสำคัญหลายประการ มีเทคนิคการตรวจที่จำเพาะและมีความไวที่ดีขึ้น แต่อย่างไรก็ตามในการนำไปใช้ประโยชน์ทางคลินิกก็มีข้อควรระวัง และข้อจำกัดมากขึ้น ดังนั้น การตรวจแอนติบอดีในกลุ่ม ANA จึงได้กำหนดเป็นแนวปฏิบัติคือให้ตรวจ IF-ANA เป็นการตรวจกรองเบื้องต้น หากพบผลเป็นบวกตามลักษณะรูปแบบ (pattern) จะนำไปตรวจ Anti-dsDNA Ab ด้วยวิธี IF และตรวจ Anti-ENA Ab ด้วยวิธี LIA และ/หรือ EIA/ELISA แล้วแต่กรณีต่อไป

แม้ผลการตรวจ ANA จะมีความถูกต้องมากขึ้น แต่ก็ยังถือเป็นข้อมูลหนึ่งในคำแนะนำ (Guideline) สำหรับประกอบการวินิจฉัย ดังนั้นเพื่อความถูกต้อง และเป็นประโยชน์ทางคลินิกอย่างสูงสุด ยังคงต้องใช้พิจารณาร่วมกับข้อมูลอื่นของผู้ป่วยแต่ละรายด้วยเช่นเดิม

**คำสำคัญ :** แอนติบอดีต่อนิวเคลียส, แอนติบอดีต่อตัวเอง, โรครูมาติก

[1] สายวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
[*] ผู้รับผิดชอบบทความ

วารสาร
เทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด
JOURNAL OF MEDICAL TECHNOLOGY AND PHYSICAL THERAPY

บทความปริทัศน์
REVIEW ARTICLE

# Up-to-date in Anti-Nuclear Abs for clinical use

Winyou Wongpratoom[1*]

**Abstract**

Anti-Nuclear Ab (ANA) or LE factor in the past 60 year is a group of autoantibodies involved in the pathology of many organs in rheumatic diseases particular in SLE. Regarding to several accumulated clinical datas from CTD, nowaday it is accepted that they compose of antibodies against not only to nuclear components but also to many substances in cytoplasm of cell. The anti-dsDNA Ab, many antibodies in Anti-ENA Ab particular Anti-Sm Ab, Anti-U1-RNP Ab, Anti-SSA/Ro Ab, Anti-SSB/La Ab, Anti-centromere Ab and Anti Scl-70 Ab are the most clinical significant autoantibodies. Anti-Ribosomal P, anti-Jo-1 Ab, anti-Mitochondria Ab and anti-Actin Ab are autoantibodies against cytoplasmic components. All can be detected by IF-ANA, IF-Anti dsDNA Ab, Line Immunoassay (LIA) and/or EIA/ELISA. However, the use must carefully applied in clinical laboratory i.e, IF-ANA as found initially positive, the proper LIA and EIA/ELISA will be selected along with algorithmic approach for ANA testing. Even ANA results are more validity than ever, it is still accepted as a data criteria for guideline of the clinical diagnosis, follow-up and prognosis for CTD in the present.

**Keywords** : Anti-Nuclear Antibody, Autoantibodies, Rheumatic diseases

[1] Division of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

[*] Corresponding author (e-mail : winyou@kku.ac.th)

**บทนำ**

Anti-Nuclear Ab (ANA) เป็นแอนติบอดีต่อตัวเองที่พบมานานกว่า 60 ปี โดยพบร่วมกับกลุ่มโรคเกี่ยวกับเนื้อเยื่อ (Connective tissue diseases) และ ในปี ค.ศ. 1948 หรือ พ.ศ. 2491 Hargraves และคณะ [(1)] ได้ค้นพบปรากฏการณ์ LE cell ในไขกระดูกของผู้ป่วยในกลุ่มโรคนี้เป็นครั้งแรกซึ่งเกิดจากการกินเศษนิวเคลียสของเม็ดเลือดขาวตัวเอง โดยให้สมมุติฐานว่า ปรากฏการณ์นี้มีปัจจัยเป็นสารบางอย่างในผู้ป่วย ซึ่งในครั้งนั้นให้ชื่อว่า “LE factor” และต่อมาในภายหลัง นักวิทยาศาสตร์ได้ทำการค้นคว้าวิจัยเพิ่มเติม สรุปได้ว่า “LE factor” ดังกล่าวนั้นคือ แอนติบอดีต่อนิวเคลียส หรือ Anti-nuclear antibodies หรือ ANA นั่นเอง และใช้การทดสอบการเกิด “LE phenomenon” ในห้องปฏิบัติการเป็นหลักฐานประกอบการวินิจฉัยโรคในกลุ่มนี้ว่ามีผลจากภูมิต้านทานต่อตัวเอง

ตั้งแต่ปี 1957 เป็นต้นมา การตรวจ ANA ใช้วิธี Indirect immunofluorescent (IFA) และมีการพัฒนาแอนติเจน หรือสับสเตรตในการวิเคราะห์ให้ดีขึ้นเป็นลำดับ จนในปัจจุบันได้รับการยอมรับให้เป็นวิธีมาตรฐาน (Gold standard) เพื่อใช้วินิจฉัยสาเหตุของโรคดังกล่าว เพราะมีความไว และความจำเพาะสูงขึ้นกว่า LE phenomenon ผลบวกที่พบยังมีได้หลายลักษณะ (patterns) สามารถนำมาใช้วินิจฉัยแยกโรคต่าง ๆ ในกลุ่มนี้ได้หลากหลาย นอกจากนั้นระดับไตเตอร์ยังสามารถใช้เพื่อความมั่นใจในการวินิจฉัยโรคได้มากขึ้นอีกด้วย อย่างไรก็ตามบางห้องปฏิบัติการณ์อาจตรวจวัดด้วยวิธี Enzyme linked immunoassay (ELISA) แทนได้ แต่ไม่สามารถบอกรูปแบบผลบวก และอาจพบผลบวกปลอมได้มากกว่าเทคนิค IFA ในยุคเริ่มแรกเข้าใจว่า ANA หมายถึงกลุ่มแอนติบอดีต่อองค์ประกอบต่างๆ ของนิวเคลียสในเซลล์ของตัวเองเท่านั้น แต่หลังจากมีการใช้ IFA เรื่อยมาจนในปัจจุบัน แอนติบอดีต่อองค์ประกอบของเซลล์แต่อยู่ในส่วนไซโตพลาสม (Cytoplasmic components) ก็ให้ถือรวมเป็น ANA ด้วยเช่นกันเพราะสามารถนำมาวินิจฉัย และประกอบการรักษาโรคในกลุ่ม Connective tissue diseases ได้อีกหลายโรค ดังนั้นบทความนี้จึงขอกล่าวทบทวนถึง ANA ที่แบ่งเป็นกลุ่มย่อยตามแอนติเจนที่เป็นองค์ประกอบของนิวเคลียสและไซโตพลาสมได้เป็น 4 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มแอนติบอดีต่อส่วนกรดนิวคลีอิก (Nucleic acid) ได้แก่ แอนติบอดีต่อส่วนแอนติเจน (Antigenic sites) บนกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิก (Anti-deoxyribonucleic acid antibodies; Double-stranded หรือ Single-stranded DNA) และแอนติบอดีต่อกรดไรโบนิคลีอิก (Anti-ribonucleic acid antibody ; RNA )

กลุ่มแอนติบอดีต่อโปรตีนเบสในนิวเคลียส (Basic nuclear proteins) ได้แก่ แอนติบอดีต่อโปรตีนฮีสโตน (Histone protein)

กลุ่มแอนติบอดีต่อโปรตีนกรดในนิวเคลียส (Acidic nuclear proteins) ได้แก่แอนติบอดีต่อโปรตีนที่ไม่ใช่ฮีสโตน (Non-histone protien) หรือ โปรตีนที่สามารถสกัดจากเซลล์ได้โดยง่ายด้วยน้ำเกลือนอร์มัลหรือปัจจุบันนิยมเรียกโปรตีนรวมๆในกลุ่มนี้ว่า “Extractable nuclear antigens” หรือ “ENAs” ซึ่งแอนติบอดีต่อโปรตีนส่วนนี้มีหลายชนิด แต่ที่มีความสำคัญทางการแพทย์แบ่งได้เป็น 2 กลุ่มได้แก่

กลุ่มที่เรียกตามชื่อผู้ป่วยรายแรกที่ค้นพบ อาทิ แอนติบอดีต่อส่วนแอนติเจนสมิทต์ (Anti-Smith antibody; Anti-Sm Ab) แอนติบอดีต่อส่วนโปรตีน SjÖgren syndrome-A/Ro (Anti-SS-A antibody, Anti-Ro Ab) แอนติบอดีต่อส่วนโปรตีน SjÖgren syndrome-B/La (Anti-SS-B antibody, Anti-La Ab) เป็นต้น

กลุ่มที่เรียกตามองค์ประกอบของเซลล์ หรือชื่อโรค ได้แก่ แอนติบอดีต่อส่วนโปรตีนไรโบนิวเคลียร์ (Anti-ribonucleoprotein antibody; Anti-RNP Ab) แอนติบอดีต่อส่วนโปรตีน เอส ซี แอล เจ็ดสิบ (Anti-Scl-70 Ab) แอนติบอดีต่อส่วนโปรตีนบนเซ็นโตรเมียร์ (Anti-centromere Ab) แอนติบอดีต่อส่วนโปรตีน พี เอ็ม เอส ซี แอล (Anti-PM-Scl Ab) ฯลฯ เป็นต้น

กลุ่มแอนติบอดีต่อส่วนไซโตพลาสม (Cytoplasmic components) ได้แก่ แอนติบอดีต่อไมโตครอนเดียร์ (Mitochrondria) แอนติบอดีต่อสาร Jo-1 หรือ แอนติเจนที่เกิดใหม่ขณะที่ t-RNA เกาะกับฮีสติดีน (Histidyl

cognated t-RNA) แอนติบอดีต่อไรโบโซม (Ribosome) ในผู้ป่วย SLE และแอนติบอดีต่อสาร filament ต่าง ๆ ที่มีบทบาทสำคัญในระบบ cytoskeleton ของเซลล์ ฯลฯ เป็นต้น

แอนติบอดีแต่ละชนิดในแต่ละกลุ่มที่กล่าวมาส่วนมากเป็น IgG แต่อาจพบเป็น IgM ได้บ้าง ทุก class มีบทบาทสำคัญที่ทำให้ผู้ป่วยเกิดพยาธิอาการ สามารถพบได้เสมอในผู้ป่วยกลุ่มโรครูมาติก หรือโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ฯลฯ **(ตารางที่ 1)** แต่อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันแม้จะมีงานค้นคว้าวิจัยโรคต่าง ๆ ในกลุ่มนี้มากมาย แต่ก็ยังไม่ทราบสาเหตุของกลไกการสร้างที่แน่ชัดได้

**ตารางที่ 1** แสดง ANA ชนิดต่างๆ กับอัตราการตรวจพบด้วยวิธี IFA ในโรครูมาติกแต่ละโรคที่พบบ่อย

| Antibody Specificity | Active SLE | MCTD | PSS | CREST | 1° Sjögren syndrome | RA | Drug Induced LE |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ANA | > 95% | > 95% | 70-90% | 60-90% | > 70% | 40-50% | 100% |
| Anti-ds DNA Ab | 60% | neg | neg | neg | neg | rare | neg |
| Anti-Sm Ab | 30% | neg | neg | neg | neg | neg | neg |
| Anti-RNP Ab | 30% | > 95% (high titer) | common (low titer) | neg | Rare (low titer) | rare | 10-20% (low titer) |
| Anti-Centromere Ab | rare | rare | 10-15% | 60-90% | neg | neg | neg |
| Anti-Ro (SS-A) Ab | 30% | rare | rare | neg | 70% | rare | neg |
| Anti-La (SS-B) Ab | 15% | rare | rare | neg | 60% | rare | neg |
| Anti-Nucleolar Ab | occas. | neg | common | neg | occas. | rare | neg |
| Anti-Scl-70 Ab | neg | neg | 10-20% | neg | neg | neg | neg |
| Anti-Histone Ab | 60% | neg | occas. | occas. | neg | 20% | 95% |

*Common = พบได้บ่อยเป็นธรรมดา Occas. = พบได้บ้างบางโอกาส Rare = โอกาสพบได้ยาก*

แม้โดยทั่วไปจะเข้าใจว่า แอนติบอดีเหล่านี้จัดเป็นแอนติบอดีที่ไม่ปรกติ เป็นอันตรายต่อตัวเอง แต่จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ในคนปรกติ โดยเฉพาะผู้สูงอายุ หรือสตรีบางคน และในผู้ป่วยโรคอื่นที่ไม่ใช่โรคในกลุ่มรูมาติกที่มีสาเหตุจากกลไกผิดปรกติทางภูมิต้านทานต่อตนเอง ก็สามารถตรวจพบแอนติบอดีเหล่านี้ได้บ้างเช่นกัน แต่จะพบในปริมาณเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

**1. กลุ่มแอนติบอดีต่อส่วนกรดนิวคลีอิก (Nucleic acid)**

ตามหลักการโดยทั่วไปแล้ว หากเปรียบเทียบสารที่มีคุณสมบัติทางชีวเคมีต่างๆ กับคุณสมบัติความเป็นแอนติเจน (Antigenicity) แล้ว สารที่เป็นกรดนิวคลีอิก (Nucleic acid) จะมีคุณสมบัติต่ำสุด ในขณะที่สารในกลุ่มไขมัน คาร์โบไฮเดรต และโปรตีนจะแสดงคุณสมบัติดังกล่าว

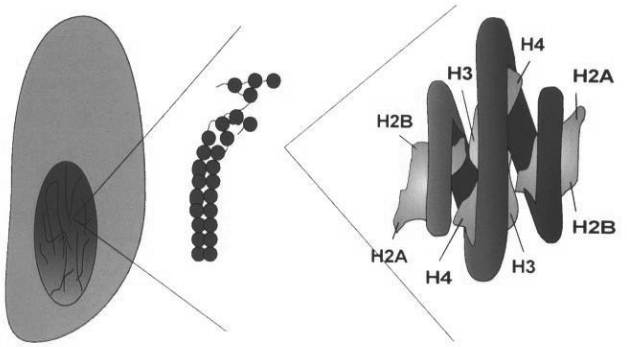
มากขึ้นเป็นลำดับ ในธรรมชาติ กรดนิวคลีอิกจะเป็นสารที่อยู่ส่วนในสุดของเซลล์ ถ้าเป็นเซลล์พวก Eukaryotic cells หรือเซลล์ในสัตว์ชั้นสูง จะถูกห่อหุ้มด้วยผิวเมมเบรนของเซลล์ก่อตัวเป็นออร์แกรนเนล (Organelle) ที่เรียกว่า “นิวเคลียส” ไว้ภายในอีกชั้นหนึ่ง ดังนั้น โอกาสที่กรดนิวคลีอิกจะออกมานอกเซลล์ สัมผัสกับเซลล์ในระบบอิมมูนเพื่อจะให้เกิดภูมิต้านทาน จึงมีความเป็นไปได้ค่อนข้างน้อย แต่จะด้วยกลไกใดก็ตาม เมื่อเกิดภูมิต้านทานต่อสารนี้แล้ว แอนติเจนบนกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิกจะสามารถกระตุ้นให้สร้างแอนติบอดีได้มากกว่ากรดไรโบนิวคลีอิก และสามารถกระตุ้นได้โดยลำพัง ไม่เหมือนกรดไรโบนิวคลีอิกที่จะต้องร่วมกับโปรตีนอื่นๆ จึงจะสามารถกระตุ้นให้เกิดภูมิต้านทานต่อตัวมันเองได้ ซึ่งจะได้กล่าวในรายละเอียดร่วมกับกลุ่มแอนติบอดีอื่นอีกต่อไป

แอนติบอดีต่อกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิก หรือ Anti-double stand DNA Ab; Anti-dsDNA Ab หรือ Anti-native DNA Ab; Anti-nDNA Ab เป็นแอนติบอดีที่พบมากที่สุดในผู้ป่วยโรค SLE สามารถตรวจได้ด้วยเทคนิค IFA คล้ายการตรวจ ANA แต่ใช้เชื้อโปรโตซัว คือ *Cristhedia luciliae* ที่มี organelle คือ Kinetoplast ซึ่งเป็น native DNA แทน จากวิธีดังกล่าวมีงานวิจัยบางแห่งพบผู้ป่วย SLE มี Anti-dsDNA Ab ได้เกือบ 100 % [2] แต่โดยทั่วไปจะพบในช่วง 25-85% [3] แล้วแต่กลุ่มประชากรที่ศึกษา ระดับไตเตอร์ของ Anti-dsDNA Ab ยังถือว่ามีความสำคัญตามพยาธิอาการ SLE ด้วย กล่าวคือ ระดับไตเตอร์สูงจะเป็นเครื่องบ่งชี้ชัดเจนว่าผู้ป่วยกำลังเป็น active SLE โดยเฉพาะถ้าพบมีระดับคอมพรีเมนต์ C3 ต่ำร่วมด้วย [4] และนอกจากนั้น Anti-dsDNA Ab ที่ไตเตอร์สูงมักพบใน SLE ที่มีอาการทางไตร่วมด้วยเสมอ เพราะ Anti-dsDNA Ab มักเกิดปฏิกิริยาข้ามกลุ่ม (cross reactive) สามารถจับได้กับสารแอนติเจนบน Glomerular basement membrane ของไต ได้แก่ Heparan sulphate สาร Collagen V สาร Fibronectin และสาร Laminin จากนั้นจะเกิดขบวนการ internalized โดยเซลไตที่สามารถทำให้ T cell เข้าไปก่ออาการอักเสบ (inflammation) ที่อาจทำให้ไตล้มเหลวได้ (Renal failure)

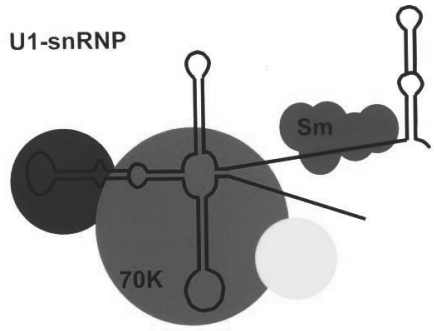
สำหรับ Anti-single-stranded DNA (ssDNA) Ab นั้น ตำแหน่งเบส purine และ pyrimidine จะเป็นบริเวณที่แอนติบอดีสามารถเข้าจับได้ โดยเฉพาะในกรณีที่กรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิกไม่อยู่ในสภาพปรกติ (Denatured DNA) ยกตัวอย่างเช่น ในกรณีผู้ป่วยได้รับผลข้างเคียงจากยาบางชนิดแล้วมีอาการลูปัส เป็นต้น แอนติบอดีนี้ไม่สำคัญทางคลินิกนัก เพราะเมื่อผู้ป่วยหยุดยาก็จะหายจากอาการเหล่านี้ไปได้เอง

**2. กลุ่มแอนติบอดีต่อโปรตีนเบสในนิวเคลียส (Basic nuclear proteins)**

ได้แก่ แอนติบอดีต่อโปรตีนฮีสโตน (Histones) ซึ่งเป็นโปรตีนสำคัญในการยึดตรึงสายเกลียวคู่ของ ดีเอ็นเอไว้ **(รูปที่ 1)** โปรตีนนี้ประกอบด้วยส่วนแอนติเจน (Antigenic sites หรือ Epitopes) หลายส่วนคือ H2A H2B H3 และ H4 แต่ส่วนที่มีความสำคัญคือส่วน H2A-H2B ซึ่งเมื่อรวมกับสายดีเอ็นเอ จะประกอบกันเป็น [H2A-H2B]-DNA complex หรือ Deoxyribonucleoprotein (DNP) สามารถจับกับแอนติบอดีที่จำเพาะ คือ Anti-DNP Ab ได้ ตามปรกติแอนติบอดีต่อโปรตีนเหล่านี้จะไม่มีในเลือด แต่จะมีโอกาสพบได้มากขึ้นในกรณีผู้ป่วยใช้ยาบางชนิด โดยเฉพาะยา Procainamide และ Hydralazine ฯลฯ แอนติบอดีชนิดนี้ไม่สามารถกระตุ้นคอมพรีเมนต์ได้ดีเหมือน Anti-dsDNA Ab ดังนั้นผู้ป่วยจะมีพยาธิอาการเป็นโรคลูปัสที่เรียกว่า “Drug induced SLE” ได้เท่านั้น ซึ่งจากการศึกษาพบได้ 75- 95 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนผู้ป่วยนี้ อย่างไรก็ตาม Anti-DNP Ab ยังพบได้อีกในผู้ป่วยที่เป็น idiopathic SLE ถึง 75% พบใน Rhuematoid arthritis 20% ใน Juvenile chronic arthritis และใน Progressive systemic sclerosis ได้ด้วย [5, 6]




**รูปที่ 1** ภาพวาดแสดง “Histones” รวมอยู่ใน “DNA” [10]




**รูปที่ 2** ภาพวาดแสดง “Sm antigen” รวมอยู่ใน “U1-snRNP complex”[10]

**3. กลุ่มแอนติบอดีต่อโปรตีนกรดในนิวเคลียส (Acidic nuclear proteins)**

ดังเช่นที่กล่าวข้างต้น แอนติบอดีเหล่านี้คือกลุ่มแอนติบอดีต่อโปรตีนที่ไม่ใช่ฮีสโตน(Non-histone protien) หรือ “Anti-Extractable nuclear antigens (Anti-ENA Abs)” ได้แก่

**3.1 แอนติบอดีต่อส่วนแอนติเจนสมิทต์ (Anti-Smith antibody; Anti-Sm Ab)**

“Smith antigen” หรือ “Sm Antigen” เป็นแอนติเจนที่พบครั้งแรกเมื่อปี ค.ศ. 1966 [7] ในผู้ป่วย SLE หญิงสกุล “สมิทต์” แอนติเจนนี้เป็นส่วน core units ของกลุ่ม “small nuclear ribonucleoproteins (snRNP; RNA with core units termed A-G Proteins)” โดยจะอยู่ร่วมกับ Uridine-rich RNA ซึ่ง U-snRNA นี้ยังสามารถแบ่งได้อีกเป็น 5 ชนิดย่อยๆ (Species) คือ U1-snRNA U2-snRNA U4-snRNA U5-snRNA หรือ U6-snRNA อย่างไรก็ตาม Anti-Sm Ab มักพบว่าจับกับ B B’ และ D unit ของ U1-snRNP เป็นส่วนใหญ่ เพราะมีลักษณะบางส่วนคล้ายโปรตีนแอนติเจนของเชื้อไวรัส Epstein-Barr ที่เชื่อว่าเป็นสาเหตุชักนำให้เกิดโรค SLE ตามกลไกการเกิดภูมิต้านทานตัวเองแบบ molecular mimicry [8, 9]

ตามปรกติ Sm antigen ที่อยู่ร่วมกับ U1-snRNP **(รูปที่ 2)** จะก่อตัวเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของ “Spliceosome” ซึ่งมีความสำคัญในขบวนการสร้างแมสเซนเจอร์อาร์เอ็นเอให้สมบูรณ์ (Mature messenger RNA)

ในผู้ป่วย SLE บางคน โดยเฉพาะในกลุ่มนิโกร หรือ ผิวดำ (Blacks) มักจะมีโอกาสพบแอนติบอดีต่อ Sm antigen (Anti-Sm Ab) ได้มาก แต่จากการศึกษาในภาพรวม พบว่า มีผู้ป่วย SLE มากถึง 20-30 เปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบ Anti-Sm Ab (ขึ้นอยู่กับเทคนิคการตรวจของห้องปฏิบัติการนั้นๆ) การตรวจพบ Anti-Sm Ab จัดว่าเป็นการตรวจที่มีความจำเพาะต่อผู้ป่วย SLE เป็นอย่างมาก คือพบความจำเพาะสูงถึง 99 เปอร์เซ็นต์ [3] เพราะยังไม่เคยพบ Anti-Sm Ab ในผู้ป่วยอื่นอีกเลย นอกจากนั้นการตรวจพบ Anti-Sm Ab ยังเป็นตัวบ่งชี้ถึงภาวะ SLE ที่เกี่ยวข้องกับอาการทาง Central nervous system ภาวะทางไต ภาวะผังพืดที่ปอด (Lung fibrosis) ภาวะอักเสบของกล้ามเนื้อหัวใจ (Pericarditis) แต่ไม่มีหลักฐานยืนยันเกี่ยวข้องความรุนแรงของโรค (Severity)

**3.2 แอนติบอดีต่อส่วนโปรตีนไรโบนิวเคลียร์ (Anti-Ribonucleoprotien antibody; Anti-RNP Ab)**

RNP เดิมเคยเรียกแอนติเจนนี้ว่า “Mo” หรือ “nRNP” แต่ในความหมายของการตรวจแอนติบอดีต่อนิวเคลียสในปัจจุบันนี้ จะหมายถึงไรโบนิวคลีโอโปรตีนที่เป็น “U1-snRNP” กับ A และ C core units รวมกันอยู่ และทั้งหมดนี้จะประกอบกันเป็นส่วนหนึ่งของ Sm-snRNP complex **(รูปที่ 2)** [11] และมีบางส่วนเหมือนแอนติเจนของ EBV ชักนำให้เกิด Anti-RNP Ab ได้ด้วยกลไก molecular mimicry คล้ายการเกิด Anti-Sm Ab สาร

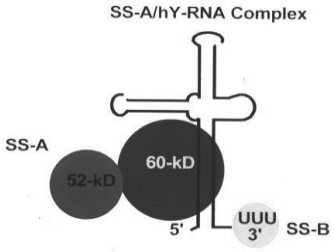
U1-snRNP เป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในขั้นตอนแรกของขบวนการ “mRNA splicing” บน Spliceosome

แม้ว่า Sm Antigen และ RNP antigen ใน U1-snRNP complex จะอยู่รวมกัน แต่ในผู้ป่วยที่มี Anti-RNP Ab แต่เพียงอย่างเดียว จะมีผลทำให้โปรตีนส่วน “Sm” ไม่แสดงสถานะเป็นแอนติเจน

Anti-RNP Ab พบได้มากในผู้ป่วยเกือบทุกรายที่มีกลุ่มอาการของโรครูมาติก โดยเฉพาะผู้ป่วยที่เป็น Mixed connective tissue diseases (MCTD) กล่าวคือ พบได้มากถึง 95 เปอร์เซ็นต์ของผู้ป่วย และสามารถตรวจพบได้ในปริมาณไตเตอร์สูงๆ (ตารางที่ 1) แต่อย่างไรก็ตาม ในผู้ป่วยอื่นก็สามารถตรวจพบได้เช่นกัน แต่จะพบในปริมาณต่ำๆ และมีบทบาทในการพยาธิอาการของโรคเหล่านั้นน้อยมาก ตัวอย่างเช่น ในผู้ป่วย SLE พบได้เพียงประมาณ 30-40 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ผู้ป่วยโรค Scleroderma Dermatomyositis Sjögren syndrome และ Rheumatoid arthritis (RA) จะมีโอกาสตรวจพบในจำนวนเปอร์เซ็นต์ที่น้อยลงไป

### 3.3 แอนติบอดีต่อส่วนโปรตีน Sjögren syndrome-A/Ro (Anti-SS-A antibody, Anti-Ro Ab)

แอนติเจน SS-A หรือ “Ro” เป็นโปรตีนขนาด 45 kDa 52 kDa 54 kDa และ 60 kDa แต่ 60 kDa และ 52 kDa ร่วมกับ small Y-RNA จำนวน 5 ชุด (Y = cytoplasmic) จัดเป็นแอนติเจนที่ชักนำให้เกิด Anti-SS-A Ab ได้มากที่สุด ดังแสดงในภาพที่ 3 แอนติเจนนี้จะอยู่ร่วม small Y-RNA เดียวกันกับ แอนติเจน SS-B หรือ “La” ที่อยู่ด้าน 3’-end ของ small Y-RNA รวมตัวเป็น “SS-A/SS-B complex” ซึ่งส่วนใหญ่พบกระจายอยู่ตามส่วนไซโตรพลาสมของเซลล์ แต่อย่างไรก็ตาม ในบริเวณนิวเคลียสก็พบได้เช่นกัน ปัจจุบันยังไม่ทราบหน้าที่การทำงานโปรตีนแอนติเจน SS-A นี้อย่างแน่ชัด




**รูปที่ 3** ภาพวาดแสดง “SS-A/SS-B complex [10]

แอนติเจน SS-A นี้มีคุณสมบัติละลายได้ง่ายในเมทิลแอลกอฮอล์ (Methanol) ดังนั้นในการตรวจ ANA ด้วยเทคนิคอิมมูโนฟลูออเรสเซ็นต์ (จะกล่าวในภายหลัง) ที่อาศัยซับสเตรตที่ถูกตรึง (fixed) ด้วยเมททิลแอลกอฮอล โดยมากมักจะตรวจไม่พบ หรือให้ผลตรวจ ANA เป็นลบปลอมเสมอ

ความสำคัญในทางคลินิกพบว่า ในผู้ป่วยที่เป็นโรค Sjögren syndrome ในระยะเริ่มแรก (Primary) จะตรวจพบ Anti-SS-A Ab หรือ Anti-Ro Ab ได้มากถึง 70 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนั้นยังพบได้ในผู้ป่วย SLE กล่าวคือ พบมากถึง 40 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนผู้ป่วย การพบ Anti SS-A Ab ในผู้ป่วย SLE นี้ นับว่ามีความสำคัญในทางคลีนิคอยู่ 3 ประการ คือ 1. มักพบในราย SLE ที่มีอาการทางผิวหนัง หรือ Subacute cutaneous lupus 2. ในราย SLE ที่มีคอมพรีเมนต์ C2 และ C4 ต่ำ (deficiency) และ 3. ในราย SLE ที่อยู่ระหว่างตั้งครรภ์ ซึ่งหากตรวจพบในปริมาณมากๆ และพบร่วมกับ Anti-SS-B Ab ด้วยแล้ว จะเป็นสัญญานบ่งชี้ถึงโอกาสเกิดลูปัสในเด็ก (neonatal lupus syndrome) ที่อาจถึงแก่ชีวิตด้วยภาวะ Congenital heart block ได้ หรือหากเด็กเกิดมาแล้วรอดชีวิต อาจจะมีอาการของลูปัสทางผิวหนังที่ไวต่อแสงแดดร่วมด้วย (Photosensitive dermatitis in the newborn)

Anti-SS-A Ab สามารถตรวจพบในกลุ่มโรครูมาติกอื่นได้บ้าง เช่น MCTD Scleroderma และ RA ฯลฯ แต่จะพบในปริมาณที่น้อย ไม่มีความสำคัญถึงการแสดงทางพยาธิอาการแต่อย่างใด

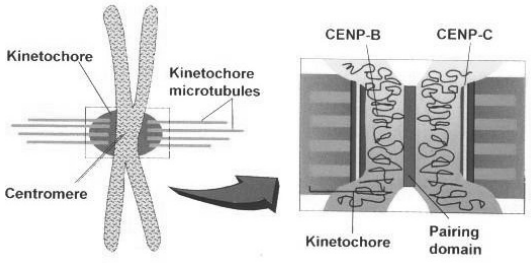
### 3.4 แอนติบอดีต่อส่วนโปรตีน SjÖgren syndrome-B/La (Anti-SS-B antibody, Anti-La Ab)

แอนติเจน SS-B หรือ “La” เป็นฟอสโฟโปรตีนในนิวเคลียส (Nuclear phosphoprotein) ขนาด 45-47 kDa พบทางด้าน 3’-end ของ small Y-RNA **(รูปที่ 3)** มีหน้าที่หยุดการ Transcription ของ RNA polymerase III จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า องค์ประกอบบางส่วนของ SS-B มีลักษณะคล้าย Retroviral gag protein สามารถชักนำให้เกิด Anti-SS-B Ab ได้ด้วยกลไก Molecular mimicry [12, 13]

แอนติบอดีต่อ SS-B หรือ Anti-SS-B Ab หรือ Anti-La Ab พบได้มากถึง 60 เปอร์เซ็นต์ของผู้ป่วย Sjögren syndrome รองลงไปคือผู้ป่วย SLE พบประมาณ10-15 เปอร์เซ็นต์ และ Scleroderma พบประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ ความสำคัญทางคลินิกอื่นนอกจากที่สัมพันธ์กับการเกิดโรคที่กล่าวแล้ว การตรวจพบ Anti-SS-B Ab ยังใช้ประโยชน์ในกรณีการวินิจฉัยแยกโรค Sjögren syndrome และ SLE กล่าวคือ ในกรณีผู้ป่วย Sjögren syndrome มักตรวจพบ Anti-SS-B Ab ร่วมกับ Anti-SS-A Ab เสมอ ในขณะที่ผู้ป่วย SLE มักพบแต่ Anti-SS-A Ab เพียงอย่างเดียว อย่างไรก็ตาม ในผู้ป่วย SLE บางรายที่มี Anti-SS-B Ab ด้วย จะมีประโยชน์ยิ่งต่อการบ่งชี้การเกิด Neonatal lupus syndrome หรือ Congenital heart block ฯลฯ เช่นที่กล่าวข้างต้น

### 3.5 แอนติบอดีต่อส่วนโปรตีนบนเซ็นโตรเมียร์ (Anti-centromere Ab)

เซ็นโตรเมียร์ (Centromere) เป็นโปรตีนที่มีความสำคัญในระหว่างที่เซลล์มีการแบ่งตัว (Mitosis) โปรตีนนี้พบอยู่ในชั้นภายในและภายนอกของ Kinetochore plates ซึ่งเชื่อมโยงกับสาย Mitotic spindle ที่จะทำหน้าที่ดึงโครโมโซมแยกออกจากกันต่อไป **(รูปที่ 4)** ในทางวิทยาภูมิคุ้มกัน เซ็นโตรเมียร์ประกอบไปด้วยส่วนแอนติเจนอยู่ประมาณ 6 ส่วน คือ CENP- A ถึง F แต่ที่พบมีได้บ่อยที่สุดคือ CENP-B (80kDa) เป็น DNA binding protein รองลงไปคือ CENP-A (17 kDa, Histone H3-like protein) และ CENP-C (140 kDa protein involved in kinetochore assembly) ส่วนที่เหลือคือ CENP-D (50kDa) CENP-E (312kDa) และ CENP-F (367kDa) นั้นยังไม่ทราบในรายละเอียดมากนัก




**รูปที่ 4** ภาพวาดแสดง “CERP-B-C” รวมอยู่ใน “เซ็นโตรเมียร์” [10]

ในผู้ป่วย Scleroderma ที่มีการแสดงออกทางผิวหนังแบบจำกัด (Limited cutaneous disease) หรือแต่ก่อนเรียกว่า กลุ่มอาการ “CREST” (**C**alcinosis, **R**aynaud’s phenomenon, o**E**sophageal dysmotility, **S**clerodactyly และ **T**elangiectasias) ซึ่งเป็น mild variant แบบหนึ่งของโรค Progressive systemic sclerosis (PSS) พบมีแอนติบอดีต่อเซ็นโตรเมียร์ได้ประมาณ 60 % [14-16] และจากการศึกษาในผู้ป่วยต่างเผ่าพันธุ์ และเชื้อชาติ พบว่า ผู้ป่วยที่แสดงกลุ่มอาการ CREST ที่เป็น Caucasians จะมีโอกาสตรวจพบ Anti-centromere Ab ได้มากกว่า African-American Hispanics หรือ คนชาวเอเชีย ตามลำดับ แต่จากประสบการณ์ของผู้เขียนเอง พบแอนติบอดีต่อเซ็นโตรเมียร์ได้บ่อยในผู้ป่วยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือบางพื้นที่เช่นกัน แต่คงต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมอีก เพื่อให้ได้ข้อสรุปที่แน่นอนต่อไป

การตรวจพบแอนติบอดีต่อเซ็นโตรเมียร์ในผู้ป่วย Scleroderma มักไม่พบร่วมกับการตรวจพบแอนติบอดีต่อส่วนโปรตีน เอส ซี แอล เจ็ดสิบ (Anti-Scl-70 Ab) ที่จะกล่าวต่อไป เนื่องจากแอนติบอดีชนิดหลังนี้มักจะแสดงออกเมื่อผู้ป่วยเป็น Scleroderma แบบกระจาย (Diffuse cutaneous Scleroderma)

### 3.6 แอนติบอดีต่อส่วนโปรตีน เอส ซี แอล เจ็ดสิบ (Anti-Scl-70 Ab)

โปรตีน เอส ซี แอล “เจ็ดสิบ” จัดเป็นผลิตผลของนิวเคลียร์โปรตีนท้ายสุดที่ขัดเกลามาจากเอนไซม์ ดี เอ็น เอ โทโปไอโซเมอร์เลส I (a degradation product of DNA topoisomerase I) ซึ่งโดยปรกติจะมีน้ำหนักโมเลกุลขนาด 110 kDa แต่จะถูกย่อยต่อให้เล็กลงเป็น 110 kDa 87 kDa และสุดท้ายคือ 70 kDa ซึ่งก็คือโปรตีน เอส ซี แอล 70 นั่นเอง หน้าที่ของเอนไซม์นี้มีความสำคัญในขบวนการตัด และเชื่อมต่อ DNA ซึ่งจะพบอยู่มากในบริเวณ Nucleoplasm และ Nucleolus

เช่นที่กล่าวข้างต้น แอนติบอดีต่อ โปรตีนเอส ซี แอล 70 สามารถตรวจพบในผู้ป่วย Scleroderma ได้มากถึง 25-75 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับอาการของโรค เทคนิคการตรวจ และกลุ่มตัวอย่างที่ทำการศึกษา กล่าวคือมักพบแอนติบอดีนี้ในผู้ป่วย Scleroderma ที่แสดงอาการทางผิวหนังแบบกระจาย (Diffuse cutaneous) นอกจากนั้นการตรวจพบ ยังเป็นเครื่องบ่งชี้ และทำนายโรคได้ (Prognosis) โดยพบว่าผู้ป่วยจะมีความรุนแรงของโรคนี้มากกว่าแบบ Limited cutaneous Scleroderma และมีโอกาสเกิด Interstitail pulmonary fibrosis ได้ง่าย

เป็นที่น่าสังเกตว่าในการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยต่างเชื้อชาติ และเผ่าพันธุ์ พบว่า โอกาสตรวจพบแอนติบอดีต่อ โปรตีน เอส ซี แอล 70 ในผู้ป่วยที่เป็น African-American นั้นจะมีมากสุด ในขณะที่พบได้น้อยในกลุ่มผู้ป่วย Caucasians

### 3.7 แอนติบอดีต่อส่วนโปรตีนต่างๆ ในนิวคลีโอลาร์ (Anti-nucleolar Abs)

โปรตีนในนิวคลีโอลาร์มีอยู่หลายชนิด แต่ที่มีความสำคัญกับโรครูมาติก ได้แก่

#### 3.7.1 PM-Scl

แอนติเจน PM-Scl เป็น Nucleolin complex ซึ่งประกอบด้วยสายโพลีเพพไทด์อย่างน้อย 10 สาย แต่ที่พบแอนติบอดีในผู้ป่วยที่มีอาการคาบเกี่ยว (Overlap syndrome) ระหว่าง Polymyositis-Scleroderma ได้เฉลี่ยประมาณ 50% มี 8 ชนิด ได้แก่ PM/Scl-100 (70-80%) PM/Scl-75(46-80%) hRrp4 (50 %) hRrp42 (21%) hRrp46 (18%) hCs14 (14 %) hRrp41 (10%) และ hRrp40 (7%) ทั้งหมดนี้จะรวมตัวเป็นส่วนแอนติเจนใหญ่ๆ ได้ 2 ขนาดคือ 75 kDa และ 100 kDa [17]โดยเฉพาะในรายที่มีอาการ ผิวหนัง หรือ Primary pulmonary hypertension ร่วมด้วย อย่างไรก็ตาม แอนติบอดีนี้สามารถตรวจพบได้บ้างในผู้ป่วย Dermatomyositis หรือ Scleroderma อย่างเดียว

แอนติบอดีต่อ PM-Scl (Anti-PM-Scl Ab) จัดเป็นแอนติบอดีที่มีความสำคัญทางพยาธิอาการ เพราะสามารถทำให้เกิดภาวะอักเสบของกล้ามเนื้อ (Inflammatory myopathy) ซึ่งจะก่อให้เกิดอาการ Scleroderma ต่อไป

#### 3.7.2 U3-snRNP (Fibrillarin)

แอนติเจน Fibrillarin เป็นโปรตีน Fibrous ขนาด 34 kDa ซึ่งเป็นหนึ่งในหกโปรตีนย่อยภายใน U3-snRNP โปรตีนนี้มีหน้าที่สำคัญในขบวนการ ribosomal RNA processing

จากการศึกษาในปัจจุบันพบแอนติบอดีต่อ Fibrillarin เฉพาะในผู้ป่วย Scleroderma เพียง 4-8 เปอร์เซ็นต์ และมักพบได้บ่อยในรายที่มีอาการค่อนข้างรุนแรง (Severe diffuse disease) เกี่ยวข้องกับ Skeletal muscle และ Pumonary hypertension โดยเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยที่มีเชื้อสาย African-American

#### 3.7.3 RNA polymerase I-III

RNA polymerase ประกอบไปด้วยสายโพลีเพพไทด์หลายสาย ซึ่งสามารถแสดงคุณสมบัติเป็นแอนติเจนได้

แอนติบอดีต่อ RNA polymerase I เป็นแอนติบอดีที่มีความจำเพาะมากกับโรค Systemic sclerosis กล่าวคือ สามารถพบได้มากถึง 30 เปอร์เซ็นต์ของผู้ป่วย การตรวจพบแอนติบอดีนี้มีความสัมพันธ์กับการเกิดอาการ diffuse scleroderma อย่างรวดเร็ว (rapidly progressive) และในรายที่มีพยาธิอาการเกี่ยวข้องกับอวัยวะต่างๆ ภายใน (Internal organ involvement) นอกจากนั้นยังสามารถตรวจพบแอนติบอดีต่อ RNA polymerase III ได้บ้างในรายที่แสดงอาการแบบ Diffuse cutaneous scleroderma ทั่วๆ ไป

### 3.7.4 Th To RNP

จากการศึกษาในปัจจุบันยังไม่ทราบรายละเอียดของแอนติเจนนี้มากนัก แต่พบว่า ผู้ป่วย Scleroderma ที่มีพยาธิอาการแสดงออกทางผิวหนังแบบจำกัด (Limited cutaneous disease) จะตรวจพบแอนติบอดีต่อแอนติเจนดังกล่าว หรือ Anti-Th To Ab

แม้ว่าโปรตีนต่างๆ ในนิวคลิโอลาร์ที่กล่าวมาจะสามารถกระตุ้นให้ร่างกายสร้างแอนติบอดีได้ แต่ในผู้ป่วยโรครูมาติก โดยเฉพาะผู้ป่วย Scleroderma แต่ละราย จะตรวจพบแอนติบอดีต่อโปรตีนเพียงส่วนใดส่วนหนึ่งเท่านั้น การตรวจพบแอนติบอดีต่อหลายส่วนพร้อมๆ กันมีโอกาสพบได้น้อยมาก (Rare and uncommon case)

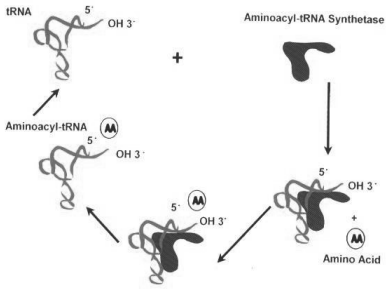
## 4. กลุ่มแอนติบอดีต่อส่วนไซโตพลาสม (Cytoplasmic components)

จากการศึกษาในระยะแรกได้ให้ความสนใจและความสำคัญต่อแอนติบอดีต่อนิวเคลียสของเซลล์ตัวเองเป็นส่วนใหญ่ แต่ต่อมาพบว่า แอนติบอดีต่อส่วนนอกนิวเคลียส หรือบริเวณไซโตพลาสม ก็สามารถมีได้ และพบมีความจำเพาะที่หลากหลายมากมาย มีความสำคัญในโรครูมาติก และโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบของกล้ามเนื้อเกี่ยวพันหลายชนิดเช่นกัน ดังนั้น ในที่นี้จะขอกล่าวเพิ่มเติมเฉพาะที่สำคัญ และมักพบร่วมได้บ่อยในขณะที่ตรวจ ANA ในห้องปฏิบัติการเท่านั้น ดังนี้

4.1 แอนติบอดีต่อส่วนแกรนนูลในไซโตพลาสม (granular cyoplasmic components) ได้แก่

4.1.1 แอนตีบอดีต่อแกนนูลแบบละเอียด (Fine granular cytplasmic Ab)

ได้แก่แอนตีบอดีต่อเจ โอ 1 (Anti-Jo-1 Ab) เจ โอ 1 (Jo-1) เป็นแอนติเจนบริเวณ Reactive site ของเอนไซม์ histidyl-tRNA synthetase (50-52 kDa) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่อยู่ในบริเวณไซโตพลาสสมของเซลล์ มีหน้าที่ในการนำพากรดอะมิโน Histidine ให้กับกรดไรโบนิคลีอิคที่เกี่ยวข้อง (its cognate transfer RNA; tRNA) **ดังรูปที่ 6**



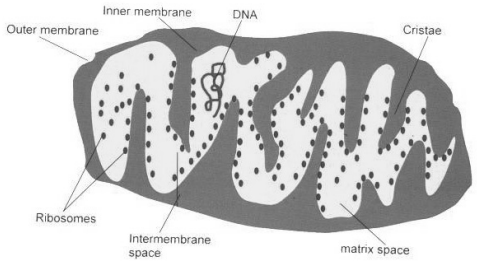

**รูปที่ 5** ภาพวาดแสดงการทำงานของ "Aminoacyl-tRNA Synthetase" [10]

โดยธรรมชาติแล้ว ส่วนแอนติเจนที่พบใน Aminoacyl-tRNA synthetase อื่นจะมีแอนติเจนในลักษณะนี้เช่นกัน แต่จะมีโครงสร้างต่างกันและมีชื่อเรียกแอนติเจนเหล่านี้ต่างกันไปด้วย อาทิ PL7 ใน Threonyl-tRNA synthetase หรือ PL12 ใน ใน Alanine-tRNA synthetase หรือ EJ ใน Glycyl-tRNA synthetase หรือ OJ ใน Isoleucyl-tRNA synthetase เป็นต้น แต่ Jo-1 จะเป็นแอนติเจนที่มีความสำคัญทางคลินิกมากที่สุด ซึ่งในผู้ป่วยที่เป็น Polymyositis ที่ลุกลาม(Aggressive) จะสามารถตรวจพบแอนติบอดีต่อ Jo-1 นี้ได้มากถึง 20-40 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนผู้ป่วย จากการศึกษาพบว่าแอนติบอดีนี้มีความจำเพาะต่อโรคนี้มากถึง 95 เปอร์เซ็นต์ และพบร่วมกับผู้ป่วย Polymyositis ที่มีพยาธิอาการทางปอดและข้อต่อ (Arthralgia) นอกจากนั้น ปริมาณแอนติบอดีที่พบจะสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคดังกล่าวนี้ด้วย

4.1.2 แอนตีบอดีต่อแกนนูลแบบหยาบ (Coarse granular cytplasmic Ab)

ได้แก่แอนติบอดีต่อไมโตคอนเดรียร์ (Anti-mitochondria Ab) ไมโตคอนเดรียร์เป็นออร์แกรนเนลที่มีความสำคัญต่อเซลล์ในขบวนการหายใจ และให้พลังงานในทางวิทยาภูมิคุ้มกัน บริเวณผิวด้านใน (Inner membrane) **(รูปที่ 5)** พบโปรตีนที่สามารถกระตุ้นให้ร่างการสร้างแอนติบอดีต่อไมโตคอนเดรียร์ได้ถึง 9 ชนิด คือ M1-M9 แต่ที่สำคัญคือ M2 M4 และ M8 ซึ่งจากการศึกษารายละเอียดพบว่า M2 คือกลุ่มของโปรตีนในผิวชั้นภายในที่มีเอนไซม์ไพรูเวส ดีไฮโดรจิเนส (Pyruvate dehydrogenase complex หรือ PDC) ร่วมกับแอนติเจน E2 ของ

เอนไซม์ไดไฮโดรไลโปเอมีห์ด อะเซติลทรานเฟอร์เรส (Dihydrolipoamide acetyltransferase, 70-74 kDa) เป็นตำแหน่งที่จะถูกจับด้วยแอนติบอดีที่เกิดขึ้นพร้อมพยาธิอาการโรค Primary biliary cirrhosis (PBC) ในทางคลินิกทั่วไปจะตรวจพบแอนติบอดีต่อไมโตคอนเดรียร์ได้ถึง 80-95 เปอร์เซนต์ของผู้ป่วย PBC และจะพบในระดับไตเตอร์สูง ส่วนในโรคอื่นจะพบได้บ้างเช่นกัน แต่จะพบในปริมาณน้อยๆ อาทิ ในผู้ป่วย Chronic active hepatitis โรค Drug-induced hepatitis หรือ Collagen disease ฯลฯ




**รูปที่ 6** ภาพวาดแสดง “Inner membrane” ใน “ไมโตคอนเดรียร์” [10]

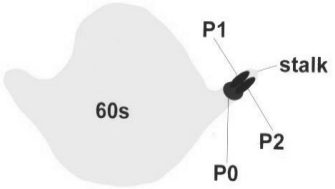
ในปัจจุบันการตรวจแอนติบอดีอื่นเพื่อช่วยยืนยันการวินิจฉัย PBC สามารถตรวจหา Anti-sp100 Ab Anti-gp210 Ab และ Anti-p62 Ab ซึ่งเป็นแอนติบอดีต่อ Sp-100 Ag ในนิวเคลียส และสารไกรโครโปรตีนบริเวณ Nuclear pore ของ Nuclear membrane ตามลำดับได้ โดยพบในกลุ่มโรค PBC ได้ถึง 25-30% [18-20]

4.1.3 แอนติบอดีต่อส่วนไซโตพลาสมของนิวโตรฟิล (Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCAs)) [21]

เป็นกลุ่มของ autoantibodies ซึ่งส่วนใหญ่เป็น IgG ต่อ antigens ในไซโตพลาสมของนิวโตรฟิล และโมโนซัยท์ มีอยู่ 2 ชนิด คือ c-ANCA antigen ซึ่งจำเพาะกับ Proteinase 3 (PR3) และ p-ANCA antigens ซึ่งจำเพาะกับ Myeloperoxidase (MPO) แอนติบอดีทั้งสองพบได้ประมาณ 35-50% ในผู้ป่วย Systemic vasculitis ที่มักเรียกว่า ANCA-associated vasculitides

แอนติบอดีต่อสารละลายในไซโตพลาสม (Homogeneous cyoplasmic components) ได้แก่ แอนตีบอดีต่อโปรตีนไรโบโซม พี (Anti-Ribosomal P Ab)

ไรโบโซม พี เป็น Phosphoprotein อย่างน้อย 3 ชนิด คือ P0 P1 และ P2 **(รูปที่ 7)** ซึ่งเป็นองค์ประกอบส่วนหนึ่งบนไรโบโซม ปัจจุบันยังไม่ทราบหน้าที่การทำงานอย่างแน่ชัด แต่โปรตีนทั้ง 3 นี้จะรวมตัวกันเป็นหน่อ (Stalk) ของไรโบโซมซึ่งพบแสดงคุณสมบัติของเอนไซม์ GTPase




**รูปที่ 7** ภาพวาดแสดง “Ribosomal P Antigens” และส่วนหน่อ (Stalk) [10]

ในผู้ป่วย SLE จะตรวจพบแอนติบอดีต่อ ไรโบโซม พี ได้ถึง 10-15 เปอร์เซ็นต์ของผู้ป่วย ซึ่งในบางรายอาจพบแอนติบอดีนี้โดยไม่มีแอนติบอดีต่อ dsDNA ร่วมด้วย ความสำคัญทางคลีนิคคือ แอนติบอดีต่อ ไรโบโซม พีนี้มักพบสัมพันธ์กับผู้ป่วย SLE ที่มีอาการทางประสาท (Neuropsychiatric symptom) และมีพยาธิอาการของไตร่วมด้วย นอกจากนั้น ปริมาณแอนติบอดีนี้ยังมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงตามพยาธิอาการของโรคด้วยเช่นกัน ดังนั้น บางครั้งอาจใช้การตรวจแอนติบอดีนี้แทนการตรวจแอนติบอดีต่อ dsDNA ในการติดตามพยาธิอาการของโรค SLE ได้

4.3 แอนติบอดีต่อส่วน Filaments ในไซโตพลาสม (Filamentous cyoplasmic components) ได้แก่ (22)

4.3.1 แอนติบอดีต่อ Actin (Anti-Actin Ab) Actin เป็นแอนติเจนที่สำคัญในการสร้างความแข็งแรงของเซลล์ เมื่อเกิด apoptosis โปรตีนนี้สามารถกระตุ้นให้เกิด Anti-Actin Ab ได้ พบมากในผู้ป่วย Autoimmune chronic active hepatitis (CAH) ประมาณ 30-40%

4.3.2 แอนติบอดีต่อ Tropomyosin (Anti-Tropomyosin Ab) คล้ายกับโปรตีน actin แต่ยังไม่มีรายงานการค้นพบที่เชื่อมโยงกับโรคในกลุ่ม CTD

4.3.3 แอนติบอดีต่อ Vimentin (Anti-Vimentin Ab) Vimentin เป็นสารที่เชื่อว่ามีแอนติเจนชนิด Citrulinated peptide ซึ่งมีความสำคัญในการกระตุ้นให้เกิด Anti-CCP Ab ในผู้ป่วย early RA แต่ยังไม่มีงานวิจัยเชื่อมโยงกันมากนักในปัจจุบัน

**เทคนิคการตรวจหา Anti-Nuclear Ab ในปัจจุบัน**

ในขั้นตอนตรวจเบื้องต้น (Screening) มีอยู่ 2 เทคนิค คือ

**1. IF-ANA**

เป็น Gold standard technic ที่มีการพัฒนาสับเสรตให้ดีขึ้น และในห้องปฏิบัติการบางแห่งได้พัฒนาเทคนิคการย้อม และใช้ Combination substrates หลายชนิดเพื่อลด variation ของการอ่านผลของผู้ทำการวิเคราะห์ให้น้อยลงได้ และเมื่อนำมาวินิจฉัยในกลุ่มผู้ป่วย CTD ทำให้ความไวในการวิเคราะห์ตามตารางต่อไปนี้ [29-34]

**2. EIA/ELISA**

มี 2 แบบที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน คือ แบบ Generic assay หมายถึงการใช้แอนติเจนรวม ๆ คล้ายแอนติเจนจากสับสเตรตที่ใช้ทำ IF-ANA ที่เป็นวิธีมาตรฐาน และแบบที่สอง คือใช้แอนติเจนแต่ละชนิดเพื่อให้ออโต้แอนติบอดีที่ต้องการตรวจหาทำปฏิกิริยา เช่น dsDNA SSA/Ro SSB/La Scl70 Sm Sm/RNP ฯลฯ สามารถเลือกทำได้เฉพาะแอนติเจนหนึ่ง ๆ หรือจัดทำเป็นชุดแอนติเจน (Multiple Ags) ตัวอย่างชุด Combination ELISA ที่ประกอบด้วย SSA/Ro SSB/La Sm และ U1-RNP หรืออาจมี Jo-1 และ Scl-70 รวมมาด้วย การใช้เทคนิค EIA/ELISA มีข้อดีคือสามารถใช้กับเครื่องอัตโนมัติตรวจหลายตัวอย่างพร้อมกันได้ ไม่มีผลกระทบจากผู้อ่านผล สามารถเลือกชุดแอนติเจนที่เกี่ยวข้องกับโรค CTD ที่สนใจได้ นอกจากนั้นยังสามารถวัดเชิงปริมาณที่ชัดเจนได้

**ตารางที่ 2**แสดงความไว (Sensiyivity) และความจำเพาะ (Specificity) ของการตรวจ IF-ANA ที่ได้ปรับปรุง และพัฒนามากขึ้นในปัจจุบัน และนำมาตรวจในกลุ่มผู้ป่วย CTD

| Autoantibodies | Associated CTD | Sensitivity | Specificity |
|---|---|---|---|
| **ANA** | SLE | 93 | 57 |
| | Sjogren's syndrome | 48 | 52 |
| | SS | 85 | 54 |
| | PM/dermatomyositis | 61 | 63 |
| | Raynaud phenomena | 64 | 41 |
| **Specific ANA** | | | |
| Anti-dsDNA | SLE | 57 | 97 |
| Anti-Sm | SLE | 25–30 | High* |
| Anti-SSA/Ro | Sjogren's syndrome, subacute cutaneous SLE, Neonatal lupus syndrome | 8–70 | 87 |
| Anti-SSB/La | Sjogren's syndrome, subacute cutaneous SLE, Neonatal lupus syndrome | 16–40 | 94 |
| Anti-U3-RNP | SS | 12 | 96 |
| Anticentromere | Limited cutaneous SS | 65 | 99.9 |
| Scl-70 | SS | 20 | 100 |
| Jo-1 | PM | 30 | 95 |

Precise data not available.

จากการศึกษาเปรียบเทียบกับวิธี IF-ANA ที่ใช้เป็น Gold standard [22] พบผลบวกมีความสอดคล้องกันถึง 87-95 % และ ศักยภาพของ ELISA ที่ใช้แอนติเจนแต่ละชนิด มีความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (Specificity) ระหว่าง 69-98 % และ 81-98 % ตามลำดับ ทั้งนี้ กำหนดผลบวก IF-ANA ที่ไตเตอร์ 160 เพราะถ้าไตเตอร์ต่ำกว่านี้ ELISA จะมีศักยภาพต่ำกว่านี้

EIA/ELISA อาจพบมีผลบวก [24, 25] และผลลบปลอมได้มาก ขึ้นอยู่กับกรรมวิธีการเตรียมแอนติเจนของผู้ผลิต และในกรณี SSA/Ro แม้ EIA/ELISA จะใช้เทคนิค Recombinant technology ในการเตรียม แต่ก็ยังคงพบผลมีลบปลอมได้เหมือน IF-ANA ดังนั้นการนำ EIA/ELISA มาใช้ตรวจตัวอย่างผู้ป่วยของห้องปฏิบัติการแต่ละที่ จึงควรศึกษาเพิ่มเติมถึงความเหมาะก่อนนำมาใช้ต่อไป [26]

**3. Line blot Immunoassay (LIA)** [26, 27]

เป็นวิธีใช้ตรวจหาออโต้แอนติบอดีแต่ละชนิดแบบ qualitative โดยเคลือบแอนติเจนแต่ละชนิดลงในช่องต่างๆ ของแผ่น nitrocellulose แล้วให้ทำปฏิริยาแบบ Indirect ELISA ซึ่งคอนจูเกตที่มีเอนไซม์ Alkaline phosphatase จากนั้นทำให้เกิดเส้นแถบสีน้ำเงินในช่องดังกล่าวด้วยการเติมซับสเตรตคือ 5-brmo-4-chloro-3-iodolylphosphate/nitroblue tetrazolium

LIA เป็นการทดสอบที่ทำได้ง่าย ใช้เวลาตรวจออโตแอนติบอดีต่างๆ พร้อมกันได้ด้วยเวลาไม่นาน และสามารถเลือกชุดแอนติเจนที่สนใจได้ ที่สำคัญคือให้ค่าความไว และความจำเพาะเท่ากับวิธี EIA/ELISA จึงถูกนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการมากมายโดยใช้ตรวจร่วมกับการตรวจ IF-ANA ข้างต้น

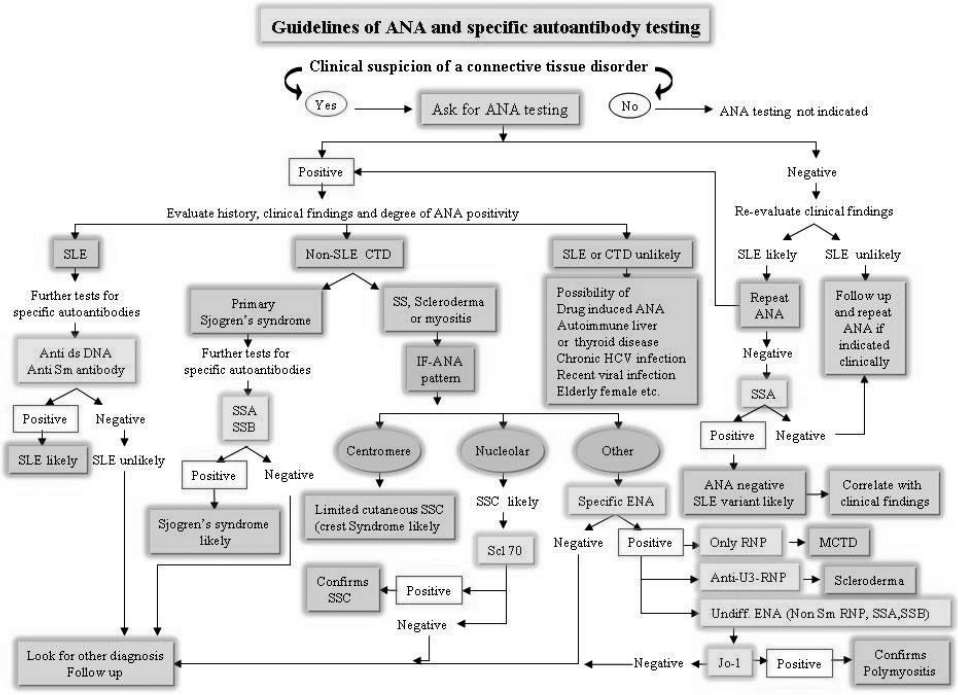
การตรวจ ANA ในปัจจุบันยังมีอีกหลายเทคนิค อาทิ Flow cytometry และ Microarray ฯลฯ แต่ยังอยู่ในขั้นพัฒนาปรับปรุง และยังต้องประเมินศักยภาพที่จะนำมาประยุกต์ใช้ทางคลีนิคต่อไป [29-44]

**แนวปฏิบัติเพื่อตรวจ ANA ในปัจจุบัน (Guideline for detection of ANA)**

การตรวจขั้นต้นจะใช้ IF-ANA แล้วดูผลการทดลองเพื่อใช้ LIA และ/หรือ EIA/ELISA ตรวจหา Specific autoantibody ต่างๆ ในลำดับต่อไปตาม**ตารางที่ 3** และขั้นตอน (Algorithmic) ใน**รูปที่ 8**

**ตารางที่ 3** ลักษณะรูปแบบของ IF-ANA ชนิดแอนติเจนต่าง ๆ ที่สามารถพบในโรค CTD ต่าง ๆ

| ANA pattern | Antigen | Associated diseases |
|---|---|---|
| Speckled | ENA, RNP, Sm, SSA/Ro, SSB/La, Scl-70, Jo-1, ribosomal-P | SLE, Mixed CTD, SS, Primary Sjogren's syndrome, PM |
| Homogenous | dsDNA, Histones | SLE, Drug induced SLE |
| Peripheral (rim) | RNP, Sm, SSA/Ro | SLE, SS |
| Nucleolar | Anti-PM-Scl, anti-RNA polymerase I-III, anti-U3-RNP, To RNP | SS, PM |
| Centromere | CENP A-E | Limited SS |




**รูปที่ 8** Algorithmic approach for ANA testing [26, 27]

**บทสรุป**

ANA เป็นกลุ่มแอนติบอดีต่อนิวเคลียสของตัวเอง แต่ในปัจจุบัน แอนติบอดีต่อสารต่าง ๆ บริเวณไซโตพลาสมก็จัดรวมอยู่ในกลุ่มนี้ด้วย เพราะมีความสำคัญทางคลินิกกับโรครูมาติกอื่นอีกมากมาย

การตรวจ ANA ยังใช้ IF-ANA เป็น “Gold standard” เพราะสามารถให้ผลการตรวจที่สามารถนำไปวินิจฉัยแยกโรคได้ เนื่องจากลักษณะผลบวก (patterns) มีอยู่หลายแบบ คือ กลุ่มแรกที่ให้ผลบวกในตำแหน่งนิวเคลียสได้บ่อยตามลำดับ ได้แก่ Speckle Homogeneous Nucleolous และ Peripheral หรือ Rim กลุ่มหลังที่ให้ผลบวกบริเวณไซโตพลาสมมี 3 กลุ่มย่อยตามลำดับที่พบบ่อย คือ Ganular cytoplasmic pattern Homogenous cytoplasmic pattern และ Filamentous cytoplasmic pattern

การตรวจ IF-ANA มีข้อควรระวังในด้านการประเมินผลการตรวจ แต่อย่างไรก็ตามในปัจจุบัน สามารถใช้เทคนิคการทดสอบ IF-ANA ที่มีสับสเตรทที่หลากหลายทำให้ผลการตรวจมีความถูกต้องไปในแนวเดียวกันมากขึ้น กล่าวคือ ถ้าพบผลบวกเป็น Speckle type ที่บ่งชี้จะว่ามี Anti-Sm Ab Anti-RNP Ab Anti-SSA/Ro Ab หรือ Anti-SSB/La Ab สามารถนำไปวินิจฉัยความไว และความจำเพาะโดยรวมของโรค SLE Mixed CTD SS Primary Sjogren’s syndrome หรือ PM ได้ชัดเจนขึ้น ถ้าพบผลบวกเป็น Homogenous type สามารถนำไปวินิจฉัยโรค SLE และโรค Drug induced lupus และโรคอื่นได้ง่ายขึ้น ถ้าพบผลบวกเป็น Nucleolous type สามารถนำไปวินิจฉัยโรค SS ทั้งแบบ Diffuse SS Limited SS หรือ Cutaneous SS ได้ชัดเจนขึ้น ถ้าพบผลบวกเป็น Peripheral type สามารถนำไปวินิจฉัยโรค SLE ว่ามี Anti-dsDNA Ab เกี่ยวข้องได้อย่างถูกต้อง

ในกรณีที่ให้ผลบวกเป็น Cytoplasmic pattern ที่พบบ่อยได้แก่ Granular Homogenous และ filamentous ซึ่งสอดคล้องกับโรค PBC SLE และ CAH

การตรวจ Anti-dsDNA Ab ปัจจุบันตรวจได้ทั้งวิธี IF และ LIA สามารถใช้เป็นหลักฐานยืนยันได้ว่า ถ้าพบในโรค SLE มักจะเป็นรายที่มีอาการทางไตร่วมด้วยเสมอ เพราะ Anti-dsDNA Ab สามารถทำปฏิกิริยาข้ามกลุ่มกับสารต่าง ๆ บริเวณ Glomerular basement membrane อาทิ Heparan sulphate Collagen IV Fibronectin หรือ Laminin ได้

ANA เป็นแอนติบอดีที่พบมีความหลากหลายในแต่ละคนซึ่งจะเป็นโรคเดียวกันในกลุ่ม Rheumatism ก็ตาม และการตรวจที่จะให้ประโยชน์สูงสุดแก่ผู้ป่วยจะต้องอาศัยข้อมูลทางคลินิกเป็นสำคัญ พร้อมกับคำแนะนำ (Guideline) การตรวจทางห้องปฏิบัติการต่าง ๆ ที่กล่าวข้างต้น

**เอกสารอ้างอิง**


1. Hargraves MM, Richmond H and Morton R. Presentation of two bone marrow elements : the “tart” cell the “LE” cell. Proceedings of the Staff Meetings of the Mayo Clinic 1948 ; 23: 25-28.
2. Kavanaugh A, Tomar R, Reveille J, Solomon DH, Homburger HA. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. American College of Pathologists. Archives of pathology & laboratory medicine. 2000; 124 (1): 71-81.
3. Anti-nuclear antibody. From Wikipedia, the free encyclopedia. edited on 23 January 2018, Available from : https://en.wikipedia.org/wiki/Anti-nuclear_antibody
4. Weinstein A, Bordwell B, Stone B, Tibbetts C, Rothfield NF. Antibodies to native DNA and serum complement (C3) levels. Application to diagnosis and classification of systemic lupus erythematosus. The American Journal of Medicine. 1983; 74 (2): 206–16.
5. Vasoo S. Drug-induced lupus: an update. Lupus. 2006; 15 (11): 757–61
6. Katz U, Zandman-Goddard G. Drug-induced lupus: an update. Autoimmunity reviews. 2010; 10 (1): 46–50.
7. Tan EM, Kunke HG : Characteristics of a soluble nuclear antigen precipitating with sera of patients with systemic lupus erythematosus. J Immunol. 1966; 96: 464
8. Zieve GW, Khusial PR. The anti-Sm immune response in autoimmunity and cell biology. Autoimmunity reviews. 2003; 2 (5): 235-40
9. Migliorini P, Baldini C, Rocchi V, Bombardieri S. “Anti-Sm and anti-RNP antibodies”. Autoimmunity. 2005 ; 38 (1): 47-54
10. AR Bradwell, RP Strokes and GD Johnson. Atlas of HEp-2 patterns (AR Bradwell supported by The binding site LTD.) England, USA and Germany ; 1995
11. Venables PJ. Mixed connective tissue disease. Lupus. 2006 ; 15(3): 132-7
12. Yamamoto K. Pathogenesis of Sjögren’s syndrome. Autoimmun Rev. 2003; 2(1): 13-8
13. Venables PJ. Sjögren’s syndrome. Best practice & research. Clinical rheumatology. 2004 ; 18 (3): 313-29.
14. Ho KT, Reveille JD. The clinical relevance of autoantibodies in scleroderma. Arthritis Research & Therapy. 2003 ; 5(2): 80-93
15. Rattner JB, Mack GJ, Fritzler MJ. Autoantibodies to components of the mitotic apparatus. Molecular biology reports. 1998 ; 25 (3): 14-55
16. Renz Harald. Autoimmune diagnostics. Kindle edition. Walter de Gruyter & Co : Germany ; 2012
17. Mahler M, Raijmakers R. Novel aspects of autoantibodies to the PM/Scl complex: clinical, genetic and diagnostic insights. Autoimmunity reviews. 2007; 6 (7): 432-7

18. Worman HJ, Courvalin JC. Antinuclear antibodies specific for primary biliary cirrhosis. Autoimmunity reviews. 2003 ; 2(4): 211-7
19. Hu T, Guan T, Gerace L. Molecular and functional characterization of the p62 complex, an assembly of nuclear pore complex glycoproteins. The Journal of Cell Biology. 1996 ; 134 (3): 589-601
20. Mackay IR, Whittingham S, Fida S, Myers M, Ikuno N, Gershwin ME, et al. The peculiar autoimmunity of primary biliary cirrhosis. Immunological reviews. 2000; 174: 226-37
21. Anti-neutrophil cytoplasmic antibody. From Wikipedia, the free encyclopedia. edited on 30 October 2017, Available from : https://en.wikipedia.org/wiki/Anti-neutrophil_cytoplasmic_antibody
22. Cytoplasmic pattern. From ICAP international concensus on ANA patterns 2017, Available from : https://www.anapatterns.org/cytoplasmic_patterns.php
23. Jaskowski TD, Schroder C, Martins TB, Mouritsen CL, Litwin CM, Hill HR. Screening for antinuclear antibodies by enzyme immunoassay. Am J Clin Pathol. 1996 ; 105: 468-473.
24. Charles PJ, van Venrooij WJ, Maini RN. The Consensus Finding Group for Auto antibodies: The consensus workshops for the detection of auto antibodies to intracellular antigens in rheumatic diseases: 1989–1992. Clin Exp Rheum. 1992 ; 10: 507-511
25. Bizzaro N, Tozzoli R, Tonutti E, Piazza A, Manoni F, Ghirardello A, et al. Variability between methods to determine ANA, anti- dsDNA and anti-ENA auto antibodies: a collaborative study with the biomedical industry. J Immunol Methods. 1998; 219: 99-107
26. Mutasim DF, Adams BB. A practical guide for serologic evaluation of autoimmune connective tissue diseases. J Am Acad Dermatol. 2000; 42: 159-174.
27. Yashwant K, Alka B and Ranjana WM. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases. Diagnostic Pathology Available from : https://diagnosticpathology.biomedcentral.com/articles/10.1186/1746-1596-4-1
28. *Damoiseaux J, Boesten K, Giesen J, Austen J, Tervaert JWC. Evaluation of a Novel Line-Blot Immunoassay for the Detection of Antibodies to Extractable Nuclear Antigens. Ann NYA Sci. 2006; 1050: 340-347.*
29. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. Ann Rheum Dis 2010; 69:1420.
30. Aryeh MA, Micha A. The Clinical Utility of a Positive Antinuclear Antibody Test Result . Methodology of Testing for Antinuclear Antibodies. 3 December 2013. Available at: http://www.rheumatology.org/practice/ana_position_stmt.pdf
31. Papadakis MA, et al. Current Medical Diagnosis & Treatment 2013. 52nd ed. New York, N.Y.: The McGraw-Hill Companies; 8 Feb 2013. Available from : http://www.accessmedicine.com/resourceTOC.aspx?resourceID=1
32. Mandl LA, et al. Clinical manifestations and diagnosis of adult Still's disease. Feb. 8, 2013 Available from : http://www.uptodate.com/home. Accessed Feb. 8, 2013
33. Antinuclear antibodies (ANA). American College of Rheumatology. 2018 Available from : http://www.rheumatology.org/Practice/Clinical/Patients/Diseases_And_Conditions/Antinuclear_Antibodies_%28ANA%29/

34. Schur PH. Measurement and clinical significance of antinuclear antibodies. UpToDate® 26 June 2014 Available from : http://www.uptodate.com/home
35. Copple SS, Jaskowski TD, Giles R, Hill HR. Interpretation of ANA indirect immunofluorescence test outside the darkroom using NOVA view compared to manual microscopy. Journal of Immunology Research 2014; Article ID 149316 : 1-7
36. Tozzoli R, Bonaguri C, Melegari A, Antico A, Bassetti D, Bizzaro N. Current state of diagnostic technologies in the autoimmunology laboratory. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine 2013; 51(1) : 129–138
37. Bizzaro N, Antico A, Platzgummer S, et al. Automated antinuclear immunofluorescence antibody screening: a comparative study of six computer-aided diagnostic systems. Autoimmunity Reviews 2014 ; 13(3) : 292–298
38. Krause C, Ens K, Fechner K, et al. EURO Pattern-Suite technology for computer-aided immunofluorescence microscopy in autoantibody diagnostics. Lupus 2015; 24(4-5) 516–529
39. Buzzulini F, Rigon A, Soda P, et al. The classification of Crithidia luciliae immunofluorescence test (CLIFT) using a novel automated system. Arthritis Research and Therapy 2014; 6(2): article R71
40. Agmon-Levin N, Damoiseaux J, Kallenberg C, et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. Ann Rheum Dis 2014; 73:17.
41. Donald BB. Measurement and clinical significance of antinuclear antibodies. UpToDate® 26 June 2014 Available from : http://admin.mabiotech.com/Produits/products/Brochure/AtheNA_Brochure.pdf
42. Zheng W, He L. Multiplexed immunoassays. In: Advances in Immunoassay Technology, Chiu NHL, Christopoulos TK (Eds), InTech, 2012 : 143-165
43. Bruner BF, Guthridge JM, Lu R, et al. Comparison of autoantibody specificities between traditional and bead-based assays in a large, diverse collection of patients with systemic lupus erythematosus and family members. Arthritis Rheum 2012; 64: 3677.
44. Op De Beck K, Vermeersch P, Verschueren P, et al. Antinuclear antibody detection by automated multiplex immunoassay in untreated patients at the time of diagnosis. Autoimmun Rev 2012; 12:137.