

Przeciwciała przeciwjądrowe w twardzinie układowej – charakterystyka antygenowa i znaczenie kliniczne

Antinuclear antibodies in systemic sclerosis – antigen specificity and clinical significance

Mariusz Puszczewicz

Pracownia Diagnostyki Reumatologicznej przy Katedrze i Klinice Reumatologiczno-Rehabilitacyjnej i Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej, kierownik Katedry i Kliniki dr hab. med. Mariusz Puszczewicz

Słowa kluczowe: przeciwciała przeciwjądrowe, choroby reumatyczne, twardzina układowa.

Key words: antinuclear antibodies, rheumatic diseases, systemic sclerosis

Streszczenie

W pracy przedstawiono charakterystykę antygenową i znaczenie kliniczne przeciwciał przeciwjądrowych w rozpoznaniu twardziny układowej. Omówiono również metody ich wykrywania oraz związek przeciwciał z objawami klinicznymi.

Summary

This article briefly reviews the structure and function of molecules targeted by specific for systemic sclerosis antinuclear antibodies. Moreover emphasizes ANA clinical relationships and methods of their detection.

Wstęp

Twardzina układowa należy do układowych chorób tkanki łącznej, które cechuje przewlekły proces zapalny o podłożu autoimmunologicznym. Charakteryzuje się ona uogólnionym zwłóknieniem skóry oraz narządów wewnętrznych, co jest efektem m.in. nadmiernej syntezy i dojrzewania kolagenu. Wyodrębniono 2 postacie twardziny – postać ograniczoną oraz układową. W przebiegu twardziny układowej stwierdza się różnego rodzaju zaburzenia odpowiedzi immunologicznej, zarówno typu komórkowego, jak i humoralnego. Ich przejawem jest m.in. obecność przeciwciał przeciwjądrowych (ANA) w surowicy krwi i płynach ustrojowych [1].

Chociaż mechanizmy indukcji ANA nie są do końca w pełni poznane, zjawisko autoimmunizacji jest uważane za czynnik biorący istotny udział w etiologii i patogenezie twardziny układowej. Wynika to z faktu, że ANA

nieomal zawsze (w ponad 95%) stwierdza się u chorych na twardzinę układową, oraz że obserwuje się swoiste dla choroby autoprzeciwciała, których nie stwierdza się w zdrowej populacji.

Przeciwciała przeciwjądrowe występują u 85–97% chorych na twardzinę układową, wykazują jednak niską swoistość. Reagują głównie z antygenami jąderka (tab. I). W przeciwieństwie do tocznia układowego oraz innych układowych chorób tkanki łącznej, ANA są skierowane przeciwko jednemu antygenowi. W metodzie immunofluorescencji pośredniej ANA powodują jąderkowy (ryc. 1.), plamisty (ryc. 2.) lub centromerowy (ryc. 3.) typ fluorescencji. W zależności od swoistości antygenowej ANA mogą dawać różne typy fluorescencji (tab. II).

ANA u chorych na twardzinę układową występują zwykle w wysokim mianie, są głównie klasy IgG i IgM. Znaczenie kliniczne jest uzależnione od swoistości antygenowej tych autoprzeciwciał.

Adres do korespondencji:

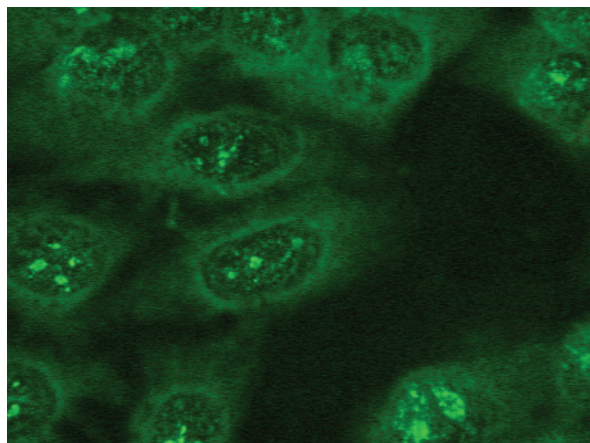
dr hab. med. Mariusz Puszczewicz, Katedra i Klinika Reumatologiczno-Rehabilitacyjna i Chorób Wewnętrznych, Akademia Medyczna, ul. 28 Czerwca 1956 r. 135/147, 61-545 Poznań, tel. +48 61 831 02 71, faks +48 61 831 02 71, e-mail: puszczewicz@hotmail.com

Praca wpłynęła: 27.02.2006 r.

Tabela I. Swoistość antygenowa oraz częstość występowania przeciwciał przeciwjądrowych w przebiegu twardziny układowej

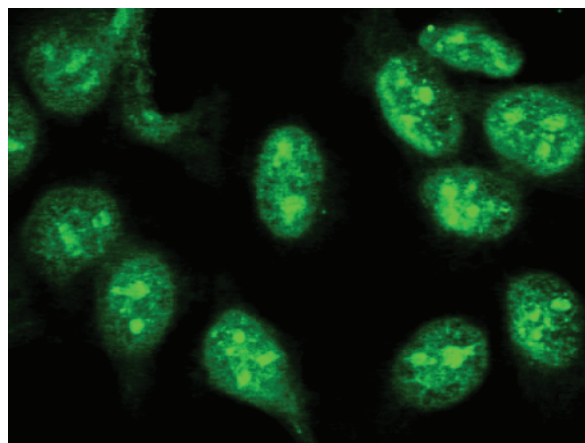
Table I. Antigenic specificity and frequency of antinuclear antibodies in systemic sclerosis

Swoistość antygenowa	Częstość występowania (%)
kinetochor (centromery)	22–36
topoizomeraza I	22–40
topoizomeraza II	22
Wa (NEFA/nukleobindyna 2)	33
polimerazy RNA	4–23
fibrylaryna (U3snoRNP)	6–8
Th snRNP (RNaza MRP, 7–2 RNA)	4–11
PM-Scl	3
NOR 90 (hUBP)	?



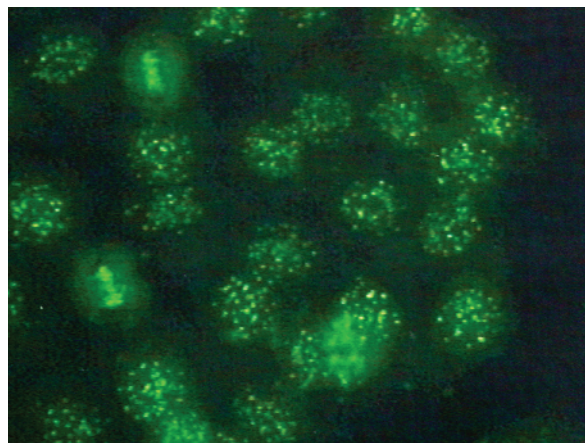
Ryc. 1. Przeciwciała przeciwjądrowe – jąderkowy typ fluorescencji.

Fig. 1. Nucleolar pattern of antinuclear antibodies (indirect immunofluorescence method).



Ryc. 2. Przeciwciała przeciwjądrowe – plamisty typ fluorescencji (metoda immunofluorescencji pośredniej).

Fig. 2. Speckled pattern of antinuclear antibodies (indirect immunofluorescence method).



Ryc. 3. Przeciwciała przeciwjądrowe – centromerowy typ fluorescencji (metoda immunofluorescencji pośredniej).

Fig. 3. Centromere pattern of antinuclear antibodies (indirect immunofluorescence method).

Charakterystyka antygenowa wybranych autoprzeciwciał

Kinetochor

Kinetochor jest trójliniową strukturą białkową, znajdującą się na centromerowym odcinku każdej chromatyny. Jest zbudowany z trzech płytek, z których najbardziej zewnętrzna składa się z luźnej sieci włókien i filamentów. Do kinetochorów przyczepiają się mikrotubule wrzeciona podziałowego. Kontroluje on segrega-

cję chromatyd podczas mitozy, jest rejonem zapoczątkowania polimeryzacji i depolimeryzacji mikrotubul.

Struktura antygenu

Głównym antygenem są 4 białka kinetochorów znajdujących się w obrębie centromerów, szczególnie w CENP-B (80 kD) oraz z CENP-A (17 kD), CENP-C (140 kD) i CENP-D. Wszystkie przeciwciała, określane mianem przeciwciał przeciwcentromerowych, reagują głównie z CENP-B.

Tabela II. Charakterystyka metod diagnostycznych ANA
Table II. Characteristics of ANA detection methods

Swoistość antygenowa	Typ fluorescencji jąder w metodzie immunofluorescencji pośredniej	Inne metody badania ANA
kinetochor (centromery)	centromerowy	immunofluorescencja pośrednia, ELISA
topoizomeraza I	rozlana i ziarnista, jąderkowy	immunoblotting, ELISA, immunodyfuzja
topoizomeraza II	?	ELISA
polimerazy RNA	punktowy, jąderka	immunoblotting, immunoprecypitacja
polimeraza RNA I	jądrowy/jąderkowy	
polimeraza RNA II	jądrowy/jąderkowy	
polimeraza RNA III	jądrowy/jąderkowy	
fibrylaryna (U3snoRNP)	bryłowaty, jąderka	immunoblotting, immunoprecypitacja
NOR 90 (hUBP)	10–20 delikatnych kropek, jądrowy*	immunoblotting, immunoprecypitacja
PM-Scl	homogeny, jąderkowy	immunodyfuzja, immunoblotting, immunoprecypitacja
Th snRNP (RNaza MRP, 7–2 RNA)	rozlany, jąderkowy	immunoprecypitacja
Wa (NEFA/nukleobindyna 2)	?	ELISA

* zależnie od cyklu komórkowego

Metody badania

W metodzie immunofluorescencji pośredniej przeciwciała te powodują centromerowy typ fluorescencji (ryc. 3.), który charakteryzuje się obecnością małych, jednakowej wielkości ziarnistości (zwykle powyżej 50) równomiernie rozłożonych w jądrze komórkowym.

Znaczenie kliniczne

Przeciwciała przeciwcentromerowe (kinetochor) występują u 22–36% chorych na twardzinę układową. Ich obecność koreluje z objawem Raynauda. Tego typu przeciwciała stwierdza się u 90% chorych z postacią ograniczoną twardziny układowej. Wykazano także, że ich występowanie koreluje ze wzrostem ryzyka choroby nowotworowej [2]. Przeciwciała te stwierdza się u chorych na zapalenie tarczycy typu Hashimoto, któremu towarzyszył objaw Raynauda [3] oraz u chorych z twardziną układową i z pierwotną żółciową marskością wątroby [4], a także u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów.

Większość autorów uważa, że przeciwciała przeciwcentromerowe są swoiste dla twardziny ograniczonej.

Topoizomeraza I (Scl-70)

Struktura antygeny

Przeciwciała reagują z regionem katalitycznym DNA topoizomerazy I, który bierze udział w przecinaniu su-

perheliksy w czasie procesu transkrypcji lub replikacji DNA. Enzym ten jest białkiem 100 kD, choć początkowo uważano, że jego masa cząsteczkowa wynosi 70 kD.

Metody badania

W metodzie immunofluorescencji pośredniej przeciwciała te powodują gruboziarnisty typ fluorescencji jąderek. Do ich oceny wykorzystuje się również metodę immunodyfuzji, immunoblottingu oraz ELISA [5].

Znaczenie kliniczne

Przeciwciała przeciw topoizomerazie I występują u 22–40% chorych na twardzinę. Są one wykładnikiem rozległych zmian skórnych oraz zajęcia bliższych części powłok ciała [6]. Wykazano, że u osób, które mają te przeciwciała, przebieg choroby jest długi i charakteryzuje się włóknieniem płuc oraz zajęciem serca [7]. Stwierdzenie przeciwciał jest często związane z występowaniem choroby nowotworowej. Przeciwciała te, wspólnie z przeciwciałami przeciw centromerom, służą do różnicowania twardziny układowej i ograniczonej. Około 40% chorych na twardzinę układową nie ma przeciwciał przeciw Scl-70 [8], a mniej niż 1% chorych może mieć przeciwciała przeciw centromerom i Scl-70.

Ostatecznie jednak zarówno przeciwciała przeciw centromerom, jak i Scl-70 można stwierdzić także u chorych na inne układowe choroby tkanki łącznej.

Topoizomeraza II DNA

Jest to enzym, uczestniczący w formowaniu szkieletu chromosomowego oraz macierzy jądrowej, utrzymujących pętle chromatynowe. Enzym ten wykazuje powinowactwo do regionów DNA, określanych jako SAR i MAR. Topoizomeraza II jest uznawana za znacznik proliferacji. Jest także substratem kaspaz i uczestniczy we wstępnej fragmentacji DNA do odcinków wielkocząsteczkowych (HMW), wiąże się z chromatyną w odstępach ok. 300 tys. par zasad w procesie apoptozy.

Struktura antygeny

Wspólnie z topoizomerazą II zidentyfikowano białko SC1, należące do wielkocząsteczkowych białek szkieletu chromosomowego.

Metody badania

Przeciwciała reagujące z topoizomerażą II są oceniane przy użyciu metody ELISA. Nie zidentyfikowano typu fluorescencji, jaką wywołują te przeciwciała w metodzie immunofluorescencji pośredniej.

Znaczenie kliniczne

Przeciwciała przeciw topoizomerazie II obserwowane są u 22% chorych na twardzinę układową, szczególnie u tych z nadciśnieniem tętniczym [9].

Wa (NEFA/Nukleobindyna 2)

Przeciwciała przeciw Wa reagują z nukleobindyną 2, białka wiążącego jony wapnia, biorącego udział w apoptozie, utrzymaniu homeostazy wapniowej komórki oraz czynności aparatu Golgiego.

Metody badania

Do oceny przeciwciał reagujących z antygenem Wa wykorzystuje się jedynie metodę ELISA. Tego typu przeciwciała nie powodują fluorescencji jądra ani jąderka komórkowego, w klasycznej metodzie immunofluorescencji pośredniej nie wykazuje się zatem obecności ANA.

Znaczenie kliniczne

Przeciwciała przeciw Wa występują u 33% chorych na twardzinę układową. Wykazano je u nielicznych chorych na toczeń układowy, z zespołem nakładania, zapaleniem wielomięśniowym i skórno-mięśniowym oraz u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów z cechami hipogammaglobulinemii i obniżenia stężenia składowych dopełniacza [10].

RNA polimerazy

Przeciwciała reagują z RNA polimerazami komórek eukariotycznych, które zawierają 3 klasy enzymów. RNA polimeraza I bierze udział w syntezie prekursorów rRNA w jąderku komórkowym. RNA polimeraza II bierze udział w transkrypcji genów niektórych małych RNA, RNA polimeraza III syntetyzuje niektóre małe jądrowe RNA oraz 5S rRNA i tRNA.

Struktura antygeny

Polimerazy RNA składają się z 2 wielkocząsteczkowych polipeptydów oraz z końcowych 6 mniejszych podjednostek. RNA polimeraza I składa się z ok. 13 podjednostek białkowych. Determinanta antygenowa znajduje się w białku o masie cząsteczkowej 210 kD.

Metody badania

W metodzie immunofluorescencji pośredniej przeciwciała przeciw RNA polimerazie powodują punktową fluorescencję jąderek w komórkach w okresie spoczynku, a w metafazie fluorescencję punktową w miejscach kondensacji chromatyny. Ocenia się je także z wykorzystaniem metody immunoprecypitacji oraz immunoblottingu.

Znaczenie kliniczne

Przeciwciała przeciw RNA polimerazie występują u 4–23% chorych na twardzinę układową, ich obecność jest związana z uogólnionym stwardnieniem skóry [11]. Spośród przeciwciał reagujących z RNA polimerazami, najbardziej swoiste dla twardziny układowej są przeciwciała reagujące z RNA polimerazą I i III. Te ostatnie są uważane za wykładnik serologiczny przełomu nerkowego u chorych na twardzinę układową [12].

Fibrylaryna (U3snoRNP)

Nazwa pochodzi od powiązania białka z fibrylarynymi strukturami jąderka. Białko to znajduje się w ciałkach zwiniętych jądra komórkowego i uczestniczy w dojrzewaniu prekursorowego rRNA [13].

Struktura antygeny

Antygenem jest białko 34 kD, bogate w N^c, N⁶-dwumetyloargininę, będące składową U3 małych jąderkowych rybonukleoprotein (snRNP).

Metody badania

W metodzie immunofluorescencji pośredniej przeciwciała przeciw fibrylarynie powodują brylowaty typ fluorescencji jąderek. Często współwystępują razem

z przeciwciałami przeciw Scl-70 oraz przeciwcentromerowymi. Można je także wykazać przy użyciu metody immunoblottingu oraz immunoprecypitacji.

Znaczenie kliniczne

Przeciwciała reagujące z fibrylaryną występują u 8–10% chorych na twardzinę. U 90% chorych mających te autoprzeciwciała stwierdza się zajęcie serca oraz płuc. Przyjmuje się, że ich występowanie jest związane z układową postacią twardziny, charakteryzującą się zajęciem narządów mięszkowych [14]. Wykazano ich istnienie również u chorych na postać ograniczoną twardziny [15], jednak nie obserwowano żadnej korelacji klinicznej ani laboratoryjnej.

Th snRNP (RNaza MRP, 7-2 RNA)

Przeciwciała te reagują z Th snRNP, znajdującą się głównie w jądrze komórkowym, która bierze udział w tworzeniu prekursorów tRNA, replikacji mitochondrialnego DNA oraz biogenezie rybosomów [16].

Struktura antygenu

Antygenem jest 40 kD białko, wchodzące w skład kompleksu Th snRNP.

Metody badania

W metodzie immunofluorescencji pośredniej przeciwciała te powodują homogeny typ fluorescencji jąder.

Znaczenie kliniczne

Przeciwciała przeciw Th występują u 4–10% chorych na twardzinę układową. Stwierdzono, że u osób mających tego typu przeciwciała częściej obserwuje się cechy twardziny ograniczonej, obrzęki palców, zajęcie jelita cienkiego, niedoczynność tarczycy oraz zapalenie stawów lub ich bóle [17].

PM-Scl

Struktura antygenu

Przeciwciała reagują zwykle z kompleksem 11–16 białek jąderkowych o masie cząsteczkowej 100 kD, 70 kD, 75 kD i 37 kD, wykazujących właściwości 3'- do 5'-eksorybonukleazy i biorących udział w tworzeniu i degradacji rybosomalnego RNA [18].

Metody badania

W metodzie immunofluorescencji pośredniej przeciwciała te powodują homogeny typ fluorescencji jąder.

Znaczenie kliniczne

Tego typu przeciwciała stwierdza się u 3% chorych na twardzinę układową. Zwykle występują one u osób z twardziną układową z towarzyszącymi zmianami w obrębie ścięgien i zajęciem nerek [19]. Około 50% chorych z zespołem nakładania twardziny i zapalenia wielomięśniowego ma te przeciwciała.

NOR90 (hUBF)

Struktura antygenu

Wykazano, że antygenem jest ludzki jąderkowy czynnik transkrypcji wiążący się powyżej startu (hUBF), który występuje w dwóch postaciach, tj. cząsteczki 97 kD i 94 kD.

Metody badania

W metodzie immunofluorescencji pośredniej przeciwciała przeciw NOR90 powodują fluorescencję jednego lub kilku małych punktów w jąderkach komórek, będących w metafazie.

Znaczenie kliniczne

Uważa się, że przeciwciała przeciw NOR90 występują głównie u chorych na twardzinę układową, jednak w nielicznych przypadkach można je stwierdzić u osób chorych na toczeń układowy czy reumatoidalne zapalenie stawów, a także na choroby nowotworowe [20].

Inne przeciwciała

Spośród przeciwciał stwierdzanych u chorych na twardzinę układową należy wymienić przeciwciała przeciwhistonowe, przeciwciała reagujące z anhydrzą węglową, przeciw HMG [21], przeciw hsp 90, przeciw ku [16], przeciw Ro, przeciw tRNA, przeciw su. Opisano także przeciwciała przeciw Sp1 – aktywatorowi transkrypcji RNAPII. Wykazano, że przeciwciała te korelują z występowaniem objawu Raynauda [22]. Goldblatt i wsp. stwierdzili przeciwciała blokujące receptory muskarynowe M3, wykazując, że ich obecność może prowadzić do zaburzeń czynności przewodu pokarmowego u chorych na twardzinę układową [23]. Natomiast Lee i wsp. u chorych na twardzinę układową wykazali przeciwciała reagujące z białkiem B, wiążącym DNA (dbpB), uważając je za marker serologiczny o znaczeniu prognostycznym [24]. Obserwowano także przeciwciała reagujące z aneksyną V oraz ich związek ze zmianami niedokrwiennymi w obrębie palców [25]. U chorych na twardzinę układową stwierdza się również przeciwciała ANCA [26]. Uważa się jednak, że ich obecność jest raczej wynikiem działania leków lub zapalenia naczyń, a nie

Tabela III. Różnicowanie ograniczonej i układowej twardziny na podstawie obecności auto-przeciwciał

Table III. Differentiation of limited and diffuse systemic sclerosis according to ANA profile

Przeciwciało	Postać układowa twardziny (%)	Postać ograniczona twardziny (%)
ANA	90–95	90–95
Scl-70	20–30	10–15
centromerowe	5	50–90
przeciw polimerazie RNA	45	6
przeciw U3 RNP (fibrylaryna)	7	–
przeciw Th/To	–	4–16

samej choroby. Ostatnio opisano również przeciwciała reagujące z epitopem znajdującym się w obrębie ciała pośredniego (*midbody antibodies*), których występowanie jest związane z postacią ograniczoną twardziny [27].

Aspekty praktyczne

W praktyce klinicznej, aby rozpoznać twardzinę układową, wykorzystuje się miano i rodzaj fluorescencji jądra komórkowego. Miano ANA jest zwykle powyżej 1/160, natomiast typy fluorescencji są na tyle swoiste, że umożliwiają ustalenie prawidłowego rozpoznania. Szczególnie przydatny jest typ jąderkowy – charakterystyczny dla twardziny układowej, oraz centromerowy – występujący u osób z zespołem CREST. W wypadku, gdy objawy kliniczne sugerują rozpoznanie twardziny układowej, a w metodzie immunofluorescencji pośredniej stwierdza się ANA o plamistym typie fluorescencji, należy ocenić swoistość antygenową autoprzeciwciał. Do tego celu służy metoda ELISA i określenie za jej pomocą występowania przeciwciał reagujących z topoisomerasą I (Scl-70).

W praktyce klinicznej istotne jest także różnicowanie układowej i ograniczonej postaci twardziny. Występowanie ANA, rodzaj fluorescencji oraz określenie swoistości antygenowej umożliwia odpowiednie rozpoznanie (tab. III).

Piśmiennictwo

1. Tan EN. Antinuclear antibodies: Diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology. *Adv Immunol* 1989; 44: 93-8.
2. Higuchi M, Horiuchi T, Ishibashi N, et al. Anticentromere antibody as a risk factor for cancer in patients with systemic sclerosis. *Clin Rheumatol* 2000; 19: 123-7.
3. Weiner ES, Earnshaw WC, Senecal JL, et al. Clinical associations of anticentromere antibodies and antibodies to topoisomerase I. A study of 355 patients. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 378-85.
4. Akimoto S, Ishikawa O, Takagi H, et al. Immunological features of patients with primary biliary cirrhosis (PBC) overlapping systemic sclerosis: a comparison with patients with PBC alone. *J Gastroenterol Hepatol* 1998; 13: 897-901.
5. Hildebrandt S, Weiner ES, Senecal JL, et al. Autoantibodies to topoisomerase I (Scl-70): analysis by gel diffusion, immunoblot, and enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin Immunol Immunopathol* 1990; 57: 399-410.
6. Steen VD, Powell DL, Medsger TA Jr. Clinical correlation and prognosis based on serum autoantibodies in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 196-203.
7. Murata I, Takenaka K, Shinohara S, et al. Diversity of myocardial involvement in systemic sclerosis: an 8-year study of 95 Japanese patients. *Am Heart J* 1998; 135: 960-9.
8. Spencer-Green G, Alter D, Welech HG. Test performance in systemic sclerosis: anti-centromere and anti-Scl-70 antibodies. *Am J Med* 1997; 103: 242-8.
9. Grigolo B, Mazzetti I, Meliconi R, et al. Anti-topoisomerase II alpha autoantibodies in systemic sclerosis – association with pulmonary hypertension and HLA-B35. *Clin Exp Immunol* 2000; 121: 539-42.
10. Yamauchi Y, Nojima T, Shirai Y, et al. Molecular cloning of the Wa autoantigen and clinical features of anti-Wa autoantibodies (abstract). *Arthritis Rheum* 2002; 46: S130.
11. Kuwana M, Kaburaki J, Mimori T, et al. Autoantibody reactive with three classes of RNA polymerases in sera from patients with systemic sclerosis. *J Clin Invest* 1993; 91: 1399-403.
12. Phan TG, Cass A, Gillin A, et al. Anti-RNA polymerase III antibodies in the diagnosis of scleroderma renal crisis sine scleroderma. *J Rheum* 1999; 26: 2489-92.
13. Dragon F, Gallagher JE, Compagnone-Post PA, et al. A large nucleolar U3 ribonucleoprotein required for 18S ribosomal RNA biogenesis. *Nature* 2002; 417: 967-70.
14. Tormey VJ, Bunn CC, Denton CP, et al. Anti-fibrillar antibodies in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2001; 40: 1157-62.
15. Yimane K, Ihn H, Kubo M, et al. Anti-U3 snRNP antibodies in localized scleroderma. *Ann Rheum Dis* 2001; 60: 1157-8.
16. Lee B, Craft JE. Molecular structure and function of autoantigens in systemic sclerosis. *Int Rev Immunol* 1995; 12: 129-44.
17. Yamane K, Ihn H, Kubo M, et al. Antibodies to Th/To ribonucleoproteins in patients with localized scleroderma. *Rheumatology* 2001; 40: 683-6.
18. Brouwer R, Pruijn GJ, van Venrooij WJ. The human exosome: an autoantigenic complex of exoribonucleases in myositis and scleroderma. *Arthritis Res* 2001; 3: 102-4.
19. Reimer G, Steen VD, Penning CA, et al. Correlates between autoantibodies to nucleolar antigens and clinical features in patients with systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum* 1988; 31: 525-8.
20. Fujii T, Mimori T, Akizuki M. Detection of autoantibodies to nucleolar transcription factor NOR90/hUBF in sera of patients with rheumatic diseases by recombinant autoantigen – base assays. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 1313-7.
21. Ayer LM, Senecal JL, Martin L, et al. Antibodies to high mobility group proteins in systemic sclerosis. *J Rheum* 1994; 21: 2071-4.

22. Spain TA, Sun R, Gradzka M, et al. The transcriptional activator Sp1, a novel autoantigen. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1085-8.
23. Goldblatt FG, Gordon TP, Watermann SA. Antibody mediated gastrointestinal dysmobility in scleroderma. *Arthritis Rheum* 2002; 390: S178.
24. Jeoung DI, Bong Lee E, et al. Autoantibody to DNA binding protein B as a novel serologic marker in systemic sclerosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 299: 549-54.
25. Sigiura K, Muro Y. Anti-annexin V antibodies and digital ischemia in patients with scleroderma. *J Rheum* 1999; 26: 2168-72.
26. Endo H, Hosono T, Kondo H. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in 6 patients with renal failure and systemic sclerosis. *J Rheum* 1994; 21: 864-7.
27. Tausche AK, Conrad K, Seidel W, et al. Anti-midbody antibodies as a possible predictive factor for special limited or abortive form of systemic sclerosis? *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 1237-8.