

自體免疫因子判讀之意義與迷思

| 呂聆音醫師 | 高雄榮民總醫院過敏免疫風濕科

人體的免疫系統認知自我與非己，能有效清除病原體、突變的腫瘤細胞、與衰老或凋亡的細胞，保護身體免受感染和疾病的傷害。自體免疫性疾病 (autoimmune diseases) 由於先天遺傳傾向，免疫細胞在分化成熟過程 (B 淋巴球於骨髓，T 淋巴球於胸線) 中，免疫監視 (immune surveillance) 系統出錯或喪失免疫耐受性 (immune tolerance)，產生對抗自體正常細胞物質的自體抗體 (autoantibody) 與攻擊自己組織的免疫細胞，加上後天環境如感染、日曬、營養或賀爾蒙失調，活化與加重自體免疫反應，導致特定器官 (organ-specific) 或全身性 (systemic) 的組織發炎與器官傷害。此外，免疫系統可在感染、疫苗接種、或接觸其他外來抗原後，因抗原分子相似性 (molecular mimicry) 或感染而導致自體抗原的改變，若再加上免疫清除能力不足，製造出非病態 (non-pathological)、低親和力 (low affinity) 的自體抗體，或稱天然抗體 (natural antibody)。此類自體抗體除加強對抗病原外，在維持免疫恆定 (homeostasis) 上佔有重要的角色。

已知的自體抗體有對抗細胞核、細胞質、胞器與細胞膜的各種成分、神經突觸、或胞外過多的蛋白質等，非常多種 (表一)。其中 Anti-Sm

與 dsDNA(SLE), Scl-70(硬皮症), Jo-1 與 MDA-5 等 (皮膚炎), PR3(血管炎), AChR(重症肌無力) 等具疾病特異性，可為診斷依據；而 anti-RNP, SSA, SSB, phospholipid, dsDNA 與 SLE 疾病表徵相關，anti-dsDNA(SLE) 與疾病活性，CCP(RA) 與疾病嚴重性相關，可用來預測與追蹤病情和評估治療反應。臨床上最常用抗核抗體 (anti-nuclear antibody, ANA) 與類風濕因子 (rheumatoid factor, RF) 來篩檢或診斷自體免疫性疾病，但因兩者疾病專一性低，有時反而造成診斷上的迷失。

抗核抗體

ANA 與 SLE 相關的證據，始於 1948 年於 SLE 病患骨髓中發現狼瘡 (LE) 細胞的描述。LE 細胞為中性白血球吞噬了抗核蛋白抗體包覆凋亡細胞之核蛋白，而形成了大型免疫複合物的現象。之後，與各自體免疫疾病有關的自體抗體陸續發現。自 1957 年始，ANA 改以 HEp-2(人類喉癌上皮細胞株) 為抗原之間接螢光染色 (indirect immunofluorescence assay, IIFA) 檢測方法，快速且敏感度高，至今仍為國際檢驗之黃金標準 (圖一)。ANA 報告包括兩個參數：效價與螢光型態。效價 $\geq 1:80$ 公認為陽性。2019 年新

表一. 全身性自體免疫疾病的自身抗體與其對應抗原

抗原	自體抗體	自體免疫疾病	
細胞核 (ANA)	Nucleosome	anti-DNA anti-histone	SLE, Lupus nephritis
	Small nuclear ribonucleoproteins (snRNP)	anti-Sm anti-U1RNP	SLE MCTD, SLE
	Ribonucleoproteins (RNP)	anti-Ro/SSA anti-La/SSB	SS, SLE, Neonatal lupus
	Centromere	anti-centromere	Limited scleroderma
	Topoisomerase-I	anti-Scl-70	SSc
細胞質	tRNA-synthetases	anti-Jo-1	Myositis
	Melanoma differentiation -associated protein 5 (MDA-5)	anti-MDA5	Myositis
	Mitochondria	AMA	PBC
	PR3, MPO	ANCA	Vasculitis
	Cytoskeleton elements	ASMA	Autoimmune hepatitis
細胞膜	Phospholipids	Lupus anticoagulant Anti-cardiolipin Anti-2GPI	APS
	Acetylcholine receptor (AChR)	anti-AChR	Myasthenia gravis
變性蛋白	Citrullinated proteins (CCPs)	Anti-CCP	RA
細胞外	Antibodies (IgG Fc portion)	RF	RA, SS, SLE, SSc

註: ANA: anti-nuclear antibody (抗核抗體), MCTD: mixed connective tissue disease (混合性結締組織疾病), SS: primary Sjogren's syndrome (原發性乾燥症), SSc: systemic sclerosis (硬皮症), AMA: anti-mitochondrial antibody (抗粒線體抗體), PBC: primary biliary cirrhosis (原發性膽汁性肝硬化), PR3: proteinase 3, MPO: myeloperoxidase, ANCA: anti-neutrophil cytoplasmic antibody (抗嗜中性白血球細胞質抗體), ASMA: anti-smooth muscle antibody (抗平滑肌抗體), APS: anti-phospholipid antibody syndrome (抗磷脂抗體症候群), RA: rheumatoid arthritis (類風濕性關節炎), RF: rheumatoid factor (類風濕因子)

的 SLE 診斷條件，已將 ANA 陽性 ($\geq 1:80$) 列為診斷 SLE 之必要與入門條件。ANA 之效價越高，臨床意義愈高。但 ANA 高低與疾病嚴重性或疾病活性無確定之相關性，因此 ANA 可供診斷依據，但不建議用來追蹤病情。ANA 陽性的疾病除全身性自體免疫性疾病外，還包括特定器官自體免疫性疾病與非自體免疫性疾病，包括懷孕，感染，癌症等 (表二)，後者之 ANA，效價低，可隨著生產，感染或癌症痊癒後逐漸下降或消失。此外，健康人也可有 ANA，尤其是自體免疫性疾病患者的親屬與老年人。

ANA 的螢光型態分為五型：均勻型 (Homogeneous)，周邊型 (Peripheral)，斑點型 (Speckled)，核仁型 (Nucleolar)，中心體型 (Centromere)。ANA 的螢光型態代表對應之細胞核內抗原物質。因此當 ANA 陽性時，更重要的是進一步以酵素免疫分析法 (Enzyme immunoassay, EIA) 確認與定量特異性抗體，幫助診斷疾病 (表一)。紅斑狼瘡病人可同時存在多種 ANA，而硬皮症之 Scl-70 抗原可同時存在於核

仁與核質內，於是 ANA 可以有混合型的螢光表現。實際上，ANA 對應的細胞核與細胞質抗原已知上百種，絕非單純五型可以鑑別。加上 ANA 螢光型態判讀與效價相當仰賴經驗，實驗室間難免有誤差。為增進 ANA 判讀統一與正確性，國際自體抗體標準化委員會 (Autoantibody Standardization Committee, ASC) 成立 ANA 螢光型態共識 (International consensus on ANA patterns, ICAP)，訂定 ANA、抗細胞質抗體 (Anti-cytoplasmic antibody) 與抗有絲分裂抗體 (Anti-mitotic antibody) 共 28 種螢光型態命名與分類，並詳列各螢光型態之抗原與疾病相關性於該網站 (圖二，<https://www.anapatterns.org/>) 供判讀依據，極具臨床參考價值。該學會並定期舉辦工作坊與實驗室品質管制測試，相當有挑戰性。近年，人工智慧發展神速，ANA 檢測染色步驟已自動化，電腦最後依 ICAP 圖庫判讀螢光型態，正確性不輸老經驗的醫檢師。這裡特別一提，ICAP 訂定之 AC-2 Dense fine speckled 螢光型態 (圖一)，抗原為 DSF70，絕多數出現於健康人，經常被誤診。

表二 . 與抗核抗體相關的疾病和相關病症

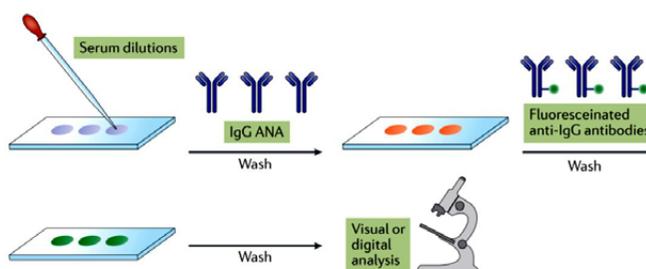
	陽性率 (%)
診斷必須要 ANA 陽性	
全身性紅斑狼瘡	99-100
混合性結締組織疾病	100
藥物引起的狼瘡	100
自體免疫性肝炎	100
ANA 有助於診斷的疾病	
硬皮症	97
多發性肌炎或皮肌炎	40-80
原發性乾燥症	48-96
ANA 有助於預後	
幼年特發性關節炎	20-50
抗磷脂症候群	40-50
雷諾氏症	20-60
ANA 通常沒有幫助的疾病	
盤形紅斑	5-25
纖維肌痛	15-25
類風溼性關節炎	30-50
自體免疫疾病患者的家屬	5-25
多發性硬化症	25
原發性血小板缺乏紫斑症	10-30
自體免疫甲狀腺疾病	30-50
矽膠義乳植入	15-25
懷孕	10
感染	差異性大
癌症	差異性大
正常健康人	
1:40	20-30
1:80	10-12
1:160	5
1:320	3

註：摘自 Firestein and Kelly's Textbook of Rheumatology, 11th ed, 2021

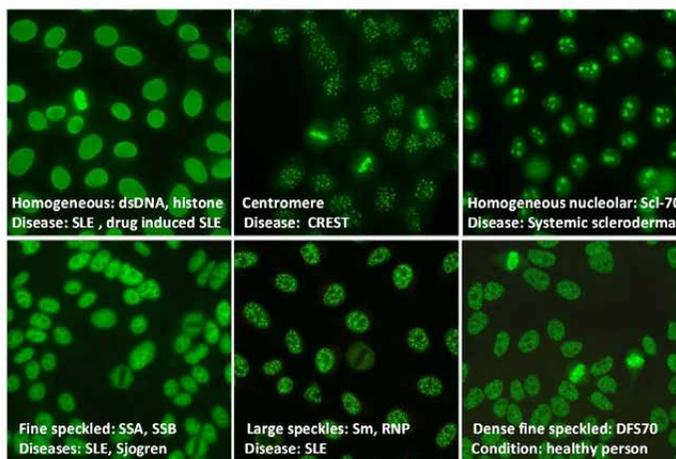
ANA 陰性或 $\leq 1:40$ ，並不能作為排除自體免疫疾病的依據。許多自體免疫疾病之 ANA 陽性率都不是 100%。此外，60 kDa Ro/SS-A 抗原溶解度是所有細胞內抗原最高者，在 IIFA 檢驗過程中可能流失，導致 ANA 假陰性；抗磷脂抗體症候群常伴隨非特異性自體免疫疾病症狀但 ANA 陰性，臨床診斷須不忘加驗 anti-cardiolipin 或 anti- $\beta 2$ GPI 抗體；而近年研究進展最多的多發性肌炎與皮肌炎，其多種肌炎專一性抗體 (myositis specific antibody) 皆為抗細胞質抗體，即使 ANA 報告陰性，在臨床徵候高度懷疑下，仍建議進一步加做 16 種肌炎相關抗體 (myositis antibody panel)，以早期確診早期治療。

ANA 為篩檢自體免疫性疾病的重要工具。理想情況下，應在臨床出現免疫性疾病表徵，以

A. 間接免疫螢光染色法 (Indirect immunofluorescence assay, IIFA)



B. 常見的 ANA 螢光型態與對應抗原



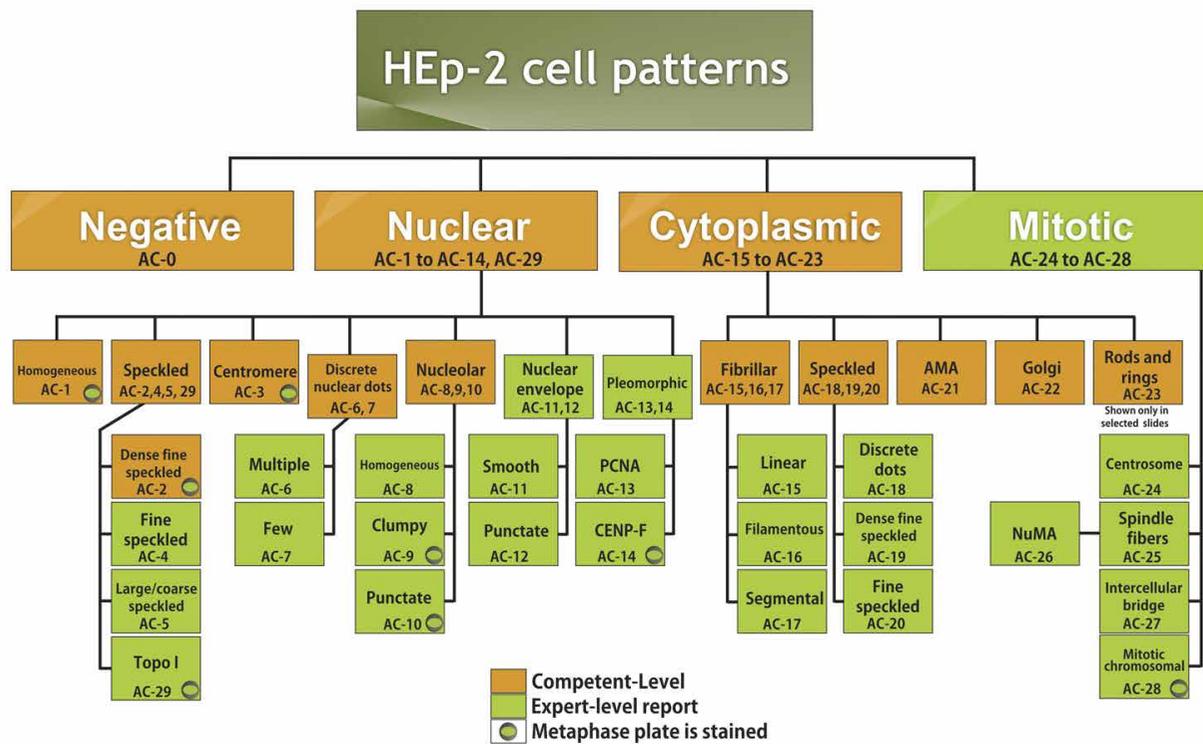
圖一 . 間接螢光染色法 (A) 與常見的 ANA 螢光型態與對應抗原 (B)

註：圖 A 摘自 Pisetsky DS. Nature review Rheumatology 2017;13:495-502

ANA 和進一步的特異性自體抗體幫助診斷與處置。在沒有臨床徵候的情況下，ANA 的陽性預測率很低，部分原因是 ANA 可能比臨床疾病早很多年出現，另一部分原因是健康人中 ANA 的發生率並不低。此外，如果 ANA 在臨床高度懷疑的情況下呈陰性，則仍可能須日後追蹤甚至重測，因為無論是否發病，ANA 效價本身就會隨時間起伏。

類風濕因子 (RF) 與 anti-CCP 抗體

RF 是自體免疫疾病中最早發現的抗體。1940 年 Erik Waaler 發現 RA 病人的血清 / 球蛋白可以凝集羊的紅血球的現象，稱為冷凝因子。1948 年，Harry M. Rose 發現此因子可用來診



圖二. 國際抗核抗體螢光型態共識 (International consensus on ANA patterns, ICAP) 制定之 ANA 螢光模式命名與分類 (<https://www.anapatterns.org/>)

斷 RA。後來的研究顯示，這現象主要是對抗免疫球蛋白 IgG Fc 部分之 IgM 型自體抗體造成，稱為 RF。RF 的測定方法已從 Waaler-Rose agglutination test 和後來以 IgG-coated Latex test 取代羊的紅血球，以病人血清稀釋倍數定量，主要測定 IgM-RF，進展至自動化的比濁儀 (Nephelometry)，測定 total RF，檢測敏感度可達 20mg/dL。另若研究需要，可利用 EIA 方法分別定量 RF 同種型 (isotypes: IgM-, IgA-, IgG-RF)。

RF 是一種天然抗體，可於慢性發炎，IgG 持續上升的狀況後產生，有助於加強對抗病原之免疫反應與清除免疫複合體。因此 RF 不具專一性，已知 RF 陽性之疾患相當多 (表三)，包括健康人。絕大部分非風濕疾患之 RF 不具致病性，通常隨著疾病復原而下降或消失。RF 與 RA 致病之因果關係，尚未完全清楚。根據統合分析結果，以 RF 診斷 RA，敏感性 70-90%，專一性 64.7%。但 RF 效價愈高，在預測 RA 發病、早期診斷 RA、評估疾病嚴重性如關節破壞、與關節外侵犯如間質性肺病和血管炎，仍然非常相關與重要。RF 可早於 RA 發病 10 年前就已出現，

出現順序為 IgM-RF, IgA-RF, 最後為 IgG-RF。研究顯示，前兩者同時或三者同時存在，可預測 RA 的發病，而其中 IgA-RF 為 RA 關節液中含量最高的 RF，與疾病嚴重性最相關，但 RF 同種型至今尚未普遍應用於臨床常規診療。

RA 的自體抗體研究比其他自體免疫疾病落後。1964 年，Nienhuis 與 Mandema 發現 49-91% 的 RA 病人血中存在對抗口腔黏膜細胞核周圍透明角質顆粒的自體抗體，稱為 anti-perinuclear factor，專一性可達 73-99%。這個因子與陸續在 RA 病人血液中發現的 anti-keratin (角蛋白) 抗體和 anti-filaggrin (絲聚蛋白) 抗體後來證實為同一個抗體，皆對抗瓜氨酸化 (citrullinated) 之 filaggrin，可以 EIA 測定此抗環瓜氨酸肽抗體 (anti-cyclic citrullinated peptide antibody, anti-CCP 或 ACPA)。2004 年，自 RA 病人的關節滑膜組織發現比血液和關節液更高的瓜氨酸化絲聚蛋白與 anti-CCP 表現，證實其致病相關性，自 2010 年與 RF 共列 RA 的診斷條件。現今以第二代 anti-CCP EIA 試劑檢驗，敏感性 67%，與 RF 相當，但專一性高達 96%，早期診斷 RA 比 RF 更具重要性。Anti-CCP 也

與關節破壞程度密切相關。Anti-CCP 於 RA 病人經有效藥物治療後下降，但下降的比例與幅度比 RF 小。加上 anti-CCP 檢測費用高，臨床診療上不如 ESR，CRP 或 RF 實用。Anti-CCP 也可在其他疾病出現，陽性率如：SLE 17%，乾燥症 10%，乾癬性關節炎 8-16%，結核病 7-39%，COPD 3-5%。與 RF 不同的地方是，anti-CCP 在 B 或 C 型肝炎幾乎不會出現。嚴格來講，anti-CCP 加或不加 RF，預測或診斷 RA 已有一定的準確率，但前提是一定要有關節炎的存在才算發病。

我們常在病患主訴骨關節肌肉症狀時，常規檢測 ANA 與 RF，但又常迷失於兩者報告與診斷疾病的模稜兩可。圖三 ANA 與 RF 之處置建議，

表三．類風濕因子陽性之各種疾病與狀況

	陽性率 (%)
關節炎	
類風濕性關節炎	70-90
幼年特發性關節炎	5
乾癬性關節炎	<15
其他自體免疫疾病	
原發性乾燥症	75-95
混合性結締組織疾病	50-60
全身性紅斑狼瘡	15-35
硬皮症	20-30
多發性肌炎或皮肌炎	20
全身性血管炎	5-20
感染性疾病	
亞急性細菌性心內膜炎	20-50
梅毒	5-58
結核	8
B 型肝炎	25
C 型肝炎	40-76
其他病毒感染	15-65
寄生蟲感染	20-90
肺部疾患	
類肉瘤	5-30
間質性肺部纖維化	10-50
矽肺病	30-50
其他疾患	
混合性冷球蛋白血症第二型	100
肝硬化	25
原發性膽汁性肝硬化	45-70
惡性腫瘤	5-25
多次疫苗注射後	10-15
正常健康人	
50 歲	5
70 歲	10-25

註：摘自 Ingegnoli F, Castelli R, Gualtierotti R. Rheumatoid factors: clinical applications. 2013;35:727-734.

可供臨床參考，必要時轉介過敏免疫風濕科做進一步的診療。

參考資料

1. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nature reviews Rheumatology* 2020;16:715-26.
2. Kapsogeorgou EK, Tzioufas AG. Autoantibodies in Autoimmune Diseases: Clinical and Critical Evaluation. *The Israel Medical Association journal : IMAJ* 2016;18:519-24.
3. Pisetsky DS. Antinuclear antibody testing - misunderstood or misbegotten? *Nature reviews Rheumatology* 2017;13:495-502.
4. Sur LM, Floca E, Sur DG, Colceriu MC, Samasca G, Sur G. Antinuclear Antibodies: Marker of Diagnosis and Evolution in Autoimmune Diseases. *Laboratory medicine* 2018;49:e62-e73.
5. Ingegnoli F, Castelli R, Gualtierotti R. Rheumatoid factors: clinical applications. 2013; 35:727-734.
6. Peng SL, Craft JE. Antinuclear antibody. *Firestein and Kelley's Textbook of Rheumatology*, ed 11. 2021. Elsevier, Inc. ISBN: 978-0-323-63920-0.
7. Darrah E, Rosen A, Andrade F. Autoantibodies in rheumatoid arthritis. *Firestein and Kelley's Textbook of Rheumatology*, ed 11. 2021. Elsevier, Inc. ISBN: 978-0-323-63920-0.



作者

呂聆音醫師
高雄榮民總醫院過敏免疫風濕科主任

邀稿 | 陳堯生

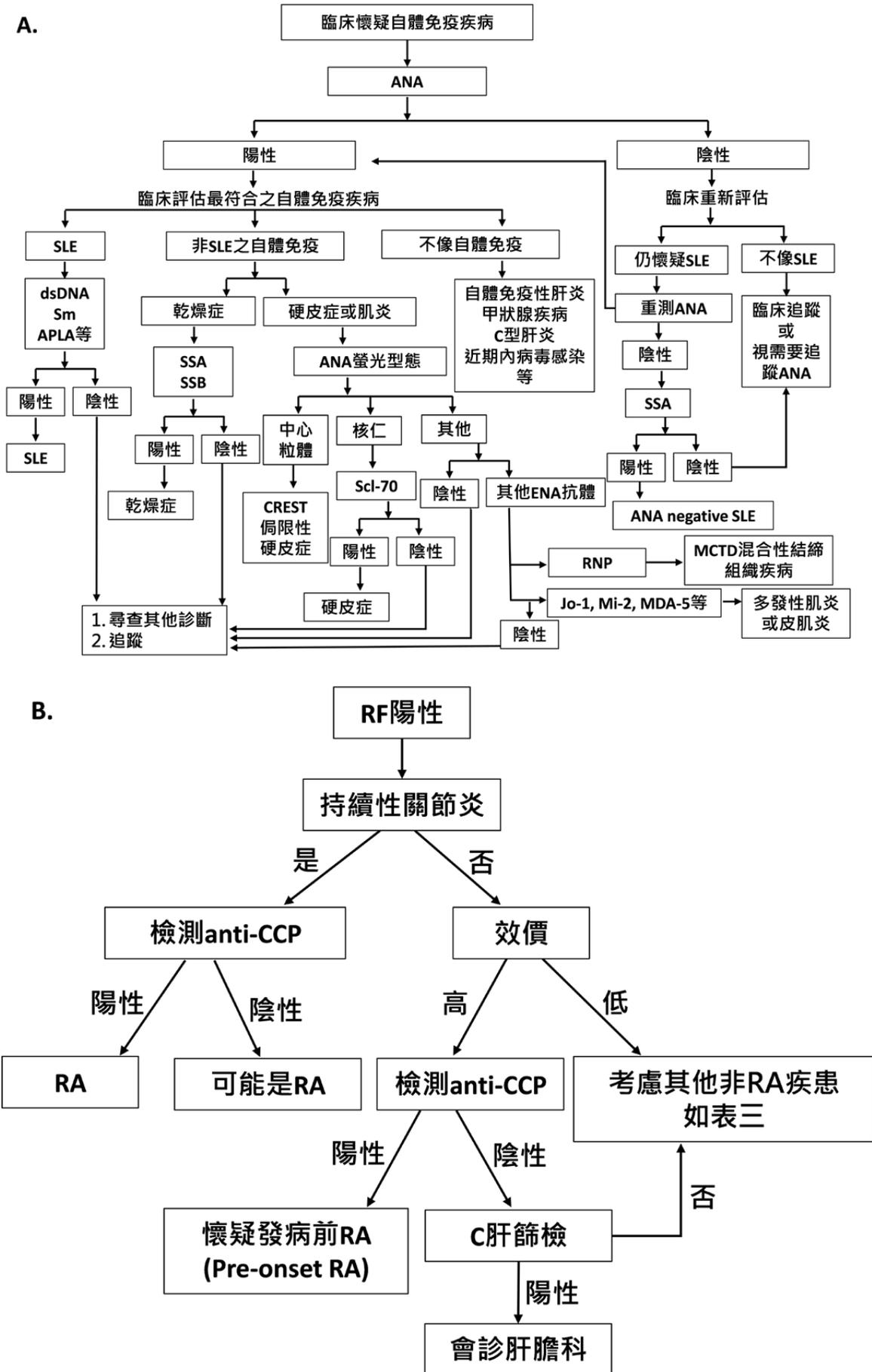


圖 3. 抗核抗體 (A) 與類風濕因子 (B) 陽性之處置建議