

# Autoimmune Systemerkrankungen\*

WOLF D. KUHLMANN

*Radioonkologie, Klinische Kooperationseinheit Strahlentherapie DKFZ Heidelberg*

*Im Neuenheimer Feld 280, D-69120 Heidelberg*

*Laboratory Diagnostics & Cell Science, 56112 Lahnstein*

---

## Immunsystem und körperliche Integrität

Das Immunsystem dient der Aufrechterhaltung der körperlichen Integrität. Das Schutzprinzip beruht im Grunde auf einer *Selbst-Nicht-Selbst-Erkennung* und bewahrt uns vor Infektionen oder anderen Erkrankungen. Immuntoleranz gilt als Garant, dass körpereigene Substanzen unversehrt bleiben. Bei fehlerhafter Unterscheidungsmöglichkeit und bei fehlerhafter Regulation kann aber das Immunsystem zur Ursache der Entstehung von Krankheiten werden.

Wenn das Immunsystem körpereigene Bestandteile als fremd erkennt, dann entwickelt sich eine Autoimmunreaktion, die je nach Ausmass zur Entzündung führt. Bei chronischem Verlauf bilden sich klinisch fassbare Autoimmunkrankheiten. Diese wiederum gehören zusammen mit den kardiovaskulären und tumorösen Erkrankungen zu den am häufigsten vorkommenden Gesundheitsstörungen. Autoimmunkrankheiten können alle Organsysteme betreffen.

Unter physiologischen Bedingungen lassen sich neben den natürlich vorkommenden Isoagglutininen gegen Blutgruppensubstanzen auch Antikörper gegen Autoantigene nachweisen, deren Titer und Avidität in der Regel jedoch niedrig sind und keine pathologischen Reaktionen auslösen. Man muß somit zwischen Autoreaktivität und Autoimmunerkrankung im engeren Sinne unterscheiden. Autoimmunkrankheiten liegen vor, wenn bei Autoreaktivität klinische Erscheinung von Gewebeschädigung auftreten. Sowohl natürliche als auch autoimmunbedingte Abläufe unterliegen komplexen Steuerungen des Immunsystems.

Das Immunsystem ist ein vielschichtiges Schutzsystem, das sich aus zellulären und humoralen Komponenten zusammensetzt. Es besteht keine kompakte, gewebeähnliche Organisation wie z.B. im Falle der Leber. Das Immunsystem ist vielmehr über den ganzen Körper verteilt und ist somit überall präsent. Zum Immunsystem zählen etwa  $10^{12}$  Zellen (vor allem T- und B-Lymphozyten, Antigen präsentierende Zellen und Makrophagen) in geweblicher (e.g. Thymus, Lymphknoten, Milz) und nicht-geweblicher Organisation sowie ca.  $10^{20}$  spezifische Moleküle (Antikörper und hormonähnliche Signalstoffe). Eine Besonderheit des Immunsystems ist seine Lernfähigkeit, d.h. es kann sich mittels seiner „Memory“ Zellen an wechselnde Situationen anpassen und verfügt somit über eine Art von *Gedächtnis*.

Das humane Genom, mit Milliarden von Bausteinen (Sequenzen aus Nukleotiden mit den Basen *Adenin, Guanin, Cytosin* und *Thymin*), verteilt sich auf 23 Chromosomenpaare und enthält ca. 30000 bis 40000 funktionell aktive Gene. Die möglicherweise um eine

---

\* Aus der Vorlesungsreihe Immunologie und Immunhistochemie (Universität Heidelberg, DKFZ Heidelberg), auszugsweise auch vorgetragen im Qualitätszirkel des MVZ für Laboratoriumsmedizin (Labor Koblenz).

Größenordnung darüber liegende erforderliche Anzahl von Antikörperspezifitäten wird nicht durch einzelne, individuelle Gene sichergestellt. Für die Antikörpervielfalt sind Transkriptom und Proteom von Bedeutung, weil die alleinige Zahl der Gene im Genom nicht den Umfang und die Funktion der Proteine bestimmt. Hierfür sind vornehmlich die zahlreichen posttranskriptionellen und posttranslationellen Prozesse verantwortlich. Die Synthese eines spezifischen Antikörpers ergibt sich aus einem ganzen Baukasten: Die verantwortlichen Immunzellen enthalten sinnvollerweise keine fertigen Antikörper-Gene, sondern einen Satz von verschiedenen Genkomponenten, die während der Zellreifung im Rahmen eines „DNA-Rearrangement“ vielfältige Kombinationsmöglichkeiten zulassen und dadurch eine praktisch unendlich große Zahl von spezifischen Antikörper- und Rezeptormolekülen hervorbringen.

Abgesehen von spezifischen Antikörpern und Rezeptoren benötigt das Immunsystem für die Erkennung antigener Strukturen auch bestimmte membranständige Oberflächenmoleküle, die dem MHC-Komplex (Major Histocompatibility Complex) angehören, dessen Gene auf dem kurzen Arm von Chromosom 6 liegen. Für die Auslösung einer Immunreaktion sind die MHC-Klasse I und die MHC-Klasse II Moleküle von besonderer Bedeutung. Sie fungieren als Rezeptoren mit der Fähigkeit zur Bindung von Peptidfragmenten, die den T-Helferzellen präsentiert werden.

- MHC-Klasse I Moleküle werden von allen kernhaltigen Zellen exprimiert. Sie bestehen aus einer schweren variablen Kette (44 kDa) und einer leichten Kette (12 kDa). Die leichte Kette ist identisch mit dem Beta-2-Mikroglobulin.
- MHC-Klasse II Moleküle sind ebenfalls aus zwei Ketten aufgebaut, i.e. eine Alpha-Kette (30 kDa) und eine Beta-Kette (35 kDa), sie kommen vornehmlich auf Zellen des Immunsystems vor (Makrophagen und andere Antigen präsentierende Zellen).

Das von einer Antigen präsentierenden Zelle (APC) aufgenommene Antigen wird intrazellulär in Fragmente zerlegt und zusammen mit Determinanten des MHC-Klasse II Komplexes an seiner Oberfläche präsentiert. Eine T-Helferzelle kann dann mit dem T-Zellrezeptor und zusammen mit der Determinante des MHC-Klasse II Moleküls das individuelle Epitop erkennen. Die Helferzelle wird erst aktiviert, wenn das Epitop auf den Antigenrezeptor passt. Im Falle einer humoralen Immunreaktion aktiviert die Helferzelle ihrerseits B-Lymphozyten, die das gleiche Antigen erkennen und aufnehmen. Daraufhin durchlaufen solche B-Zellen eine klonale Expansion und Differenzierung. Es entstehen Antikörper sezernierende Plasmazellen und sog. „Memory“ Zellen. Letztere ermöglichen bei einer erneuten Auseinandersetzung des Organismus mit dem gleichen Antigen eine sehr viel schnellere Immunreaktion (s. *Immunsystem - Grundlage von Integrität und Erkrankung*).

## **Ursachen und Auslöser von Autoimmunität**

Der Organismus ist normalerweise durch das Prinzip der immunologischen Toleranz vor Angriffen des eigenen Immunsystems geschützt. Diese Fähigkeit lernt das Immunsystem während Ontogenese. Autoantikörper sind Teil des normalen Immunsystems und spielen eine Rolle bei der Beseitigung alterierter Autoantigene und alternder Zellen. Sie sind meist polyreaktiv und vom IgM Typ. Bei einer Aktivierung des Immunsystems können sie stark stimuliert werden. Potente Induktoren findet man bei viralen, bakteriellen und parasitären Erkrankungen, aber auch bei chronisch entzündlichen Vorgängen unklarer Genese und bei lymphoproliferativen Prozessen.

Die Ursachen für Autoimmunität sind polygen und multifaktoriell. Im Krankheitsfall kommen immer mehrere Faktoren zusammen. Es liegen gesicherte Erkenntnisse vor, dass die Genetik des Patienten und hierbei insbesondere genetisch bedingte Störungen seines Immunsystems

im Zentrum der Ursachen stehen. Sowohl ethnische Untersuchungen als auch solche des MHC-Komplexes weisen auf die hohe Bedeutung genetischer Signaturen für die Entstehung von Autoimmunerkrankungen. Genetische Ursachen betreffen die Funktionen des Immunsystems in Form von zellulären Primärdefekten (T-Zellen, B-Zellen, Zellen mit Fc-Rezeptor) und humoralen Primärdefekten (Komplementbereich). Zirkulierende Autoantikörper sind nicht immer nachweisbar, z.B. bei den T-Zell vermittelten autoimmunen Reaktionen.

Toleranzstörungen werden verständlicherweise auch bei erworbenen Sekundärdefekten (humoral, zellulär) wie z.B. bei HIV-Infektion, bei Lymphomen u.a. Erkrankungen zu erwarten sein. Als Krankheits-Trigger mit auslösendem Charakter lassen sich hormonelle Einflüsse (Geschlecht, Schwangerschaft), und im weitesten Sinne sog. Umweltfaktoren (z.B. UV-Licht, Stress, Toxine, Medikamente, Infektionen) aufzählen.

## Ursachen für Autoimmunität

<b>Stammzellen</b>	➤ Thymus (abnorme Selektion) <b>Primärdefekte</b>
<b>T-Zellen</b>	➤ T-Supp. Subset, Treg, Veto-Zellen <b>Primär-/Sekundärdefekte</b>
<b>B-Zellen</b>	➤ <b>chronische polyklonale Aktivierung</b> (Zytokine, EBV-Viren)
<b>Apoptose</b>	➤ <b>Dysfunktion (FAS Genprodukt und FAS-Liganden)</b>
<b>Komplement</b>	➤ <b>C1q, C2, C4 Defekte</b>
<b>RES</b>	➤ <b>C3b- und Fc-Rezeptor Defekte und Polymorphismen</b>

Multiple Störungen des Immunsystems haben eine führende Rolle. Diese können sich auf verschiedenen Ebenen abspielen.

- **Zentrale T-Zell-Toleranz:** Störungen der Thymusfunktion bezüglich negativer Selektion (Deletion von self-reactive cells) und positiver Selektion (low affinity binding to self MHC).
- **Periphere T-Zell-Toleranz:** Defekte bei den adulten T-Zellen und ihrer Subsets, z.B. fehlende Down-Regulation von Rezeptoren der T-Zell-Aktivierung und qualitative/quantitative Störungen im Bereich der regulatorischen T-Zellen (T<sub>reg</sub>).
- **B-Zell-Toleranz:** fehlende Down-Regulation bei chronischer polyklonaler Stimulation u.a. verursacht durch freigesetzte Nukleosomen, aberrante Zytokin-Synthese oder Viren wie EBV (Wirkung wie durch aktive Transkriptionsfaktoren). Humorale Immundefekte, insbesondere das IgA Mangelsyndrom, werden überproportional häufig bei Kollagenosen festgestellt und sind wohl an der Entstehung von Autoimmunität beteiligt.
- **Störungen des angeborenen Immunsystems:** Dysfunktion durch aberrante Reaktionen des Abwehrsystems (PAMPs, inflammatorische Zytokine, Rezeptoren) mit

Regulationsstörung von Entzündung, Apoptose und unklaren Episoden systemischer Entzündung.

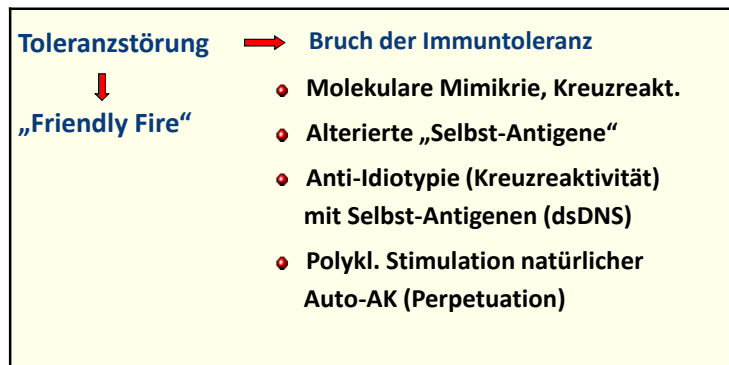
- Primärdefekte im Komplementbereich: u.a. homozygote Defekte in Genen, die zu C1-, C2- und C4-Mangel führen mit gestörter Bildung von zirkulierenden Immunkomplexen und Störungen bei der Entfernung von selbst-reaktiven B-Zellen.
- Zentrale und periphere Apoptose: Fehlregulation des Ablaufs normaler Apoptose im Thymus bei der T-Zell-Selektion und später im normalen Apoptose-Geschehen und im Rahmen der Immunregulation. Genetische Fehler mit Abnormitäten im FAS-Genprodukt und beim FAS-Liganden stören den regulären kontrollierten Zelltod für die sichere Entfernung von „unphysiologischen“ Zellen und Zellbestandteilen. Es kommt zur Überschwemmung des Körpers mit Nukleosomen.
- Rezeptoren (RES): Defekte und Polymorphismen bei den Fc- und C3b-Rezeptoren in Leber und Milz führen zu gestörter Clearance von zirkulierenden Immunkomplexen.

Neben diesen grundsätzlichen Störungen sind weitere Ursachen bekannt, die zum Bruch von Immuntoleranz führen können („Friendly Fire“).

- Molekulare Mimikrie, Kreuzreaktivität: Pathologische Folgeerscheinungen, wenn z.B. Mikroorganismen und Körperzellen gleiche oder ähnliche antigene Epitope aufweisen. Die gebildeten Antikörper reagieren nicht nur gegen die verursachenden Mikroorganismen, sondern auch mit den Selbstantigenen; ein zu beobachtendes Phänomen beim rheumatischen Fieber. Allgemein ist Kreuzreaktion möglich, wenn Epitope von zwei verschiedenen Antigenen eine ähnliche stereochemische Konfiguration aufweisen, so dass die gebildeten Antikörper mit beiden ähnlichen Antigenen reagieren können.
- Alterierte Selbst-Antigene: Alterationen entstehen z.B. unter dem Einfluss von Medikamenten, Toxinen und Infektionen. Sie gelten auch als Quelle für Autoimmunität mit Bildung unerwünschter Antikörper (Autoantikörper).
- Anti-Idiotypie: Wenn im Rahmen der normalen Immunregulation eine fehlerhafte Idiotypie-Anti-Idiotypie-Regulation abläuft. Hier besteht modellhaft die Möglichkeit von Autoimmunität, eine Art von Kreuzreaktivität gegenüber Selbst-Antigen.
- Polyklonale Stimulation natürlicher Autoantikörper: Nach Initiation einer Autoantikörpersynthese kommt es zur Perpetuation durch eine chronische B-Zell-Stimulation.

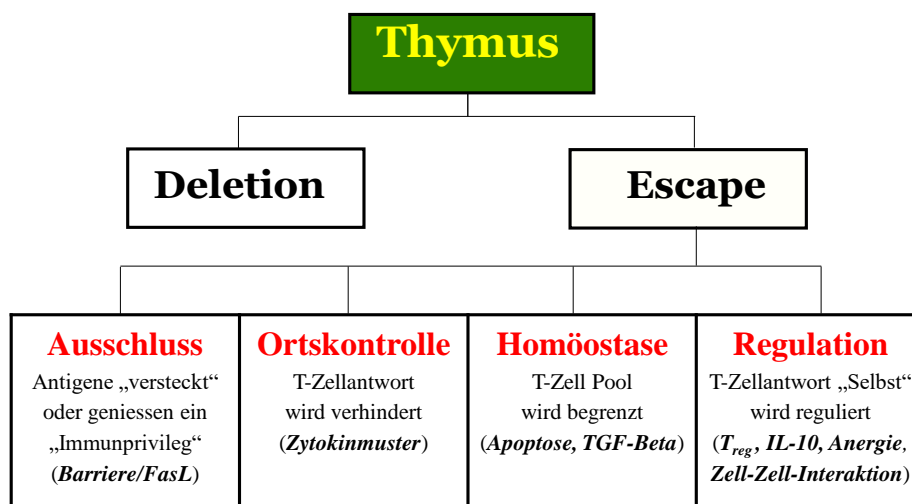
Die ektope Synthese von neuronalen Antigenen in Tumoren, die zur Antikörperbildung beim paraneoplastischen Syndrom führt, ist ein bemerkenswertes Beispiel für autoimmune Phänomene mit grossem diagnostischen Potential.

## Auslöser von Autoimmunität



Zur Vermeidung von Autoimmunität kann der Körper auf verschiedene Schutzmechanismen zurückgreifen. Bereits in der frühen Ontogenese erfolgt die Grundsteinlegung für Toleranz im Thymus. Während der T-Zellreifung machen die noch naiven T-Lymphozyten Bekanntschaft mit Selbst-Antigene und durchlaufen in Abhängigkeit von ihrer Bindungsstärke mit den Autoantigen-MHC-Komplexen (präsentiert durch Oberflächen von Thymuszellen) einen negativen und einen positiven Selektionsprozess. Hierbei spielt die jeweilige Bindungsstärke eine wesentliche Rolle, ob bei diesem als Lernprozess zu bezeichnenden Vorgang autoreaktive T-Lymphozyten durch Apoptose deletiert werden. Der Deletionsvorgang ist in der Regel nie komplett, so dass noch autoreaktive T-Zellen den Thymus verlassen (Escape) und in die Zirkulation gelangen können.

## Grundsteinlegung der Toleranz



Die höheren Lebewesen verfügen über weitere Kontrollmechanismen und Barrieren zur Aufrechterhaltung von Selbsttoleranz.

- **Ausschluss:** Immunprivileg durch Ausschluss, d.h. viele Autoantigene bleiben durch Barrieren vor dem Zugriff patrouillierender Lymphozyten verborgen. Beispiele für Orte mit begrenzter Immunüberwachung sind die Augenlinse oder Bereiche mit

natürlichen Schranken wie die Blut-Hirnschranke oder die Blut-Hodenschranke. Mit Hilfe von Oberflächenmolekülen (FasL) werden diese Bereiche vor einem zu intensiven „Interesse“ der zirkulierenden Lymphozyten geschützt, indem sie diese in den apoptotischen Zelltod treiben.

- Ortskontrolle: Eine T-Zellantwort aktivierter Immunzellen wird durch Selbst-Limitierung über komplexe Zytokinmuster verhindert.
- Homöostase: Homöostatische Prinzipien begrenzen den T-Zell-Pool auf der Grundlage von Apoptose und Wachstumsfaktoren (e.g. TGF-Beta).
- Regulation: Die T-Zellantwort gegen „Selbst“ wird durch Anergie reguliert. Dies wird erreicht, wenn z.B. eine T-Zelle das passende Peptid/MHC auf nicht-professionellen APC findet und dadurch kein zweites Signal (CD28) entsteht. Es wird ein Zustand erreicht, bei dem autoreaktive Lymphozyten in funktioneller Inaktivität verharren. Die wichtige Rolle von Antigen präsentierenden Zellen (dendritische Zellen, DC) für die Toleranzinduktion tritt in den Vordergrund. Unreife DC in der Peripherie phagozytieren zwar apoptotische Zellen, aber ohne eine Signal zur Ausreifung induzieren sie IL-10 produzierende CD8<sup>+</sup>-Zellen und bewirken eine Anergisierung von Antigen spezifischen T-Zellen. Unter besonderen Bedingungen (z.B. Infektionen und Entzündungen) können apoptotische Zellen die Ausreifung von DC stimulieren und stellen dabei nicht nur Antigene sondern auch Ausreifungssignale zur Verfügung, so dass aus den tolerogenen DC immunogene DC entstehen.
- Selbst-Limitierung: Induktion eines besonderen Funktionszustandes von CD4, Th3, Tr1 und CD8 Zellen mit Expression von spezifischen Molekülen. Es handelt sich um natürliche (aus dem Thymus stammende) und induzierte regulatorische T-Zellen (T<sub>reg</sub>), auch regulatorische NKT Zellen. Sie exprimieren spezifische Moleküle, die als essentiell für die Differenzierung zur regulatorischen Funktion gelten. Hierzu gehören Moleküle wie CTLA-4, FoxP3 und IL-10; IL-10 inhibiert gleichzeitig die APC-Funktion.

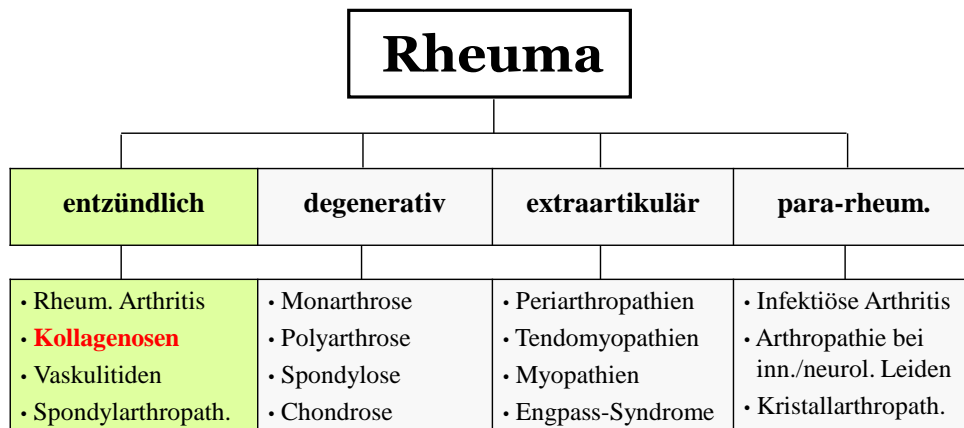
Das Gesamtkonzept der Immunregulation, sei es Verhinderung von Autoimmunität, Verhinderung überschüssender Reaktionen, Abschaltung von Immunantworten, Abstossung eines Feten oder eines Transplantates, funktioniert nur durch intaktes Zusammenspiel von Zellen und Signalstoffen. Welche Ursache der gestörten Immunregulation zugrunde liegt, Autoimmunität wird sicherlich durch Antigene getrieben. Das Konzept der molekularen Mimikrie für die Entstehung von Autoantikörpern als Ergebnis einer Immunantwort auf eine exogene Struktur mit antigenen Epitopen, die identisch oder ähnlich sind mit der Zielstruktur einer betroffenen Person, ist vorstellbar für Erkrankungen mit einer definierten Spezies von Autoantikörpern. In Fällen mit multiplen Autoantikörpern wie beim SLE ist aber diese Art der Entstehung schwer vorstellbar.

Die Entwicklung einer Autoimmunerkrankung ist gekennzeichnet durch die Präsenz von autoimmunreaktiven Zellen und der Bildung nennenswerter Mengen von Autoantikörpern. Darüber hinaus kommen in der Regel auch Störungen und Defekte des Komplementsystems und der Komplementrezeptoren zur Wirkung, auf deren Grundlage sich Änderungen (qualitativ und quantitativ) bei der Clearance von zirkulierenden Immunkomplexen abspielen. Unphysiologische Ablagerungen finden sich vorzugsweise in kleinen Blutgefäßen die zu den für Immunkomplexerkrankungen typischen Vaskulitiden führen und eine Vielzahl von Organen betreffen können.

## Autoimmune Systemerkrankungen

Die wichtigste Gruppe der Autoimmunerkrankungen sind die *systemischen Autoimmuno-pathien*, die sog. Multi-Systemerkrankungen, zu denen der Lupus erythematodes und andere Krankheiten wie die rheumatoide Arthritis gehören. Unter dem Begriff *Kollagenosen* werden nach P. KLEMPERER et al. (1941, 1942) Krankheitsbilder zusammengefaßt, die durch Autoimmunprozesse bedingt sind und mit Bindegewebsveränderungen einhergehen. Auf der Basis pathogenetischer und pathophysiologischer Krankheitsprinzipien entsteht eine chronische Bindegewebserkrankung mit Destruktion des Kollagengerüsts, fibrinoider Nekrose und Verquellung der Grundsubstanz. Auf dieser Beobachtung beruht die Bezeichnung „Kollagenose“. Das pathomorphologische Korrelat im entzündeten Gewebe ist allen autoimmunen Systemerkrankungen gemeinsam. Eine Vielzahl von Organen kann betroffen sein.

## Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises



*Kollagenosen* sind entzündliche Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises. Klinisch lassen sich verschiedene Entitäten unterscheiden, wobei der Lupus erythematodes als Paradebeispiel für ein klinisches Syndrom gilt. Der Lupus erythematodes (SLE) stellt kein einheitliches Krankheitsbild dar. SLE Fälle präsentieren sich vielmehr als eine heterogene Gruppe von chronischen Erkrankungen mit Befall vieler Organe. Die Tatsache, dass sich der Lupus erythematodes mit vielen Gesichtern zeigt, macht die Diagnostik schwierig.

## Kollagenosen: Beispiele für klinische Entitäten

- **Lupus erythematodes (LE)**
  - subakuter kutaner LE
  - neonatale Lupus-Syndrome (NLE, CHB)
  - Medikamenten-induzierter LE
  - sekundäres Sjögren-Syndrom
  - sekundäres Anti-Phospholipid-Syndrom
- **Mischkollagenose (MCTD, Sharp-Syndrom)**
- **Sjögren-Syndrom (primäres)**
- **Systemische Sklerose (diffuse Form), Sklerodermie**
  - Sklerodermie (limitierte Form, CREST-Syndrom)
  - systemische Sklerose sine scleroderma
- **Polymyositis, Dermatomyositis**
  - idiopathische Formen
  - sekundäre Formen
  - zirkumskripte Sklerodermie
- **Polymyositis/Sklerodermie Überlappungs-Syndrom**

Für autoimmune Systemerkrankungen ist ein phasenhafter Ablauf typisch, geprägt durch klinische Aktivität und Inaktivität. Häufig wird eine Abhängigkeit von der Jahreszeit mit einem Frühjahrgipfel beobachtet. Bakterielle und virale Infektionen können über eine Immunstimulation zum Ausbruch oder zur Exacerbation einer Autoimmunerkrankung führen. Schwangerschaft (hormonelle Umstellung) und immunologisch aktive Medikamente sind bekannt für die Auslösung oder Demaskierung einer Systemkrankheit. Organkomplikationen treten häufig auf, eine renale Beteiligung ist besonders gefürchtet.

## Wichtige Autoantigene bei Kollagenosen

Seit über 60 Jahren haben antinukleäre Antikörper eine zentrale Bedeutung für die Diagnostik, und Autoantikörper sind ein Markenzeichen für Autoimmunität. Die wichtigsten Antigene, die bei Kollagenosen zur Bildung von Antikörpern führen, sind Strukturen des Zellkerns, weshalb der Begriff **antinukleäre Antikörper (ANA)** geprägt wurde. Der Begriff ANA ist eher von historischer Bedeutung und heute nicht mehr zielführend. Die traditionelle Bezeichnung „ANA“ bzw. „ENA“ (für extrahierbare Kernantigene) erfasst nicht das ganze Spektrum relevanter Autoantigene/Autoantikörper, so dass der Begriff „anti-zelluläre Antikörper“ zutreffender wäre. Trotz dieses Einwandes bleiben die alten Begriffe „ANA“ und „ENA“ solange bestehen, bis sich ein internationaler Konsens zu einer neuen Nomenklatur gebildet hat. Unter den alten Bezeichnungen werden Antikörper mit Spezifität für verschiedene Zellkompartimente subsumiert, i.e.

- nukleäre Bestandteile z.B. chromatin-assoziierte Antigene wie DNA, Histone, Zentromer-Proteine, Enzyme (DNA-Topoisomerase) und nicht chromatin-assoziierte Antigene wie U1-nRNP,
- zytoplasmatische Moleküle z.B. ribosomale P-Proteine, Aminoacyl-tRNA-Synthetasen und zusätzlich nukleäre Moleküle, die aufgrund eines nukleo-zytoplasmatischen Austauschs auch im Zytoplasma nachweisbar sind,
- Strukturen des Mitoseapparates,
- Zytoplasmatische Organellen und Partikel (Ribosomen, SRP [Signal Recognition Particle], Mitochondrien, Golgiapparat, Lysosomen),
- Zellmembranbestandteile.



Antigene Epitope befinden sich z.B. auf *Polynukleotiden*, *Proteinen*, *Histonen* und *Enzymen*. Zahlreiche Antigene und deren korrespondierenden Antikörper wurden beschrieben und auch anhand ihrer immunologischen und molekularen Eigenschaften sehr genau definiert. Einige von ihnen haben eine hohe Bedeutung für diagnostische und biologische Zwecke erlangt. Ein positiver Antikörperbefund ist Hinweis auf Autoimmunität, aber noch kein unmittelbarer Hinweis auf eine manifeste Autoimmunerkrankung, weil Autoantikörper bereits mehrere Jahre vor dem Auftreten klinischer Zeichen nachweisbar werden können.

Für die Serodiagnostik von Kollagenosen ist der Nachweis von antinukleären Antikörpern (ANA) von zentraler Bedeutung. Der **ANA-IFT**, ein indirekter Immunfluoreszenztest, gilt nach wie vor als Standard-Suchtest.

### Was ist der „ANA-IFT“ ?

#### ANA

Sammelbegriff für Antikörper gegen nukleäre Antigene (nicht gewebespez.)

#### ANA-IFT

indirekter IFT, humane Kulturzellpräp. HEp-2 Zellen (Larynx-Karzinomzellen)

#### IFT-Muster

Hinweise auf Antigenspezifität (DNA, nRNP, Sm, SS-A/B, PM-Scl)

#### ANA-Titer

Schwellenwert bei 1:80 bis 1:160  
Achtung: altersabhängige Prävalenz

ANA stellen eine heterogene Gruppe von Antikörpern dar. Von der vagen Beschreibung der "LE-Zelle" durch M.M. HARGRAVES (1948) bis zur biochemisch genauen Beschreibung der zugrunde liegenden Antigenstrukturen war es ein langer Weg. Basierend auf umfassenden immunologischen und molekularen Untersuchungen sind heute zahlreiche Zielantigene bekannt, die immunhistologisch nukleären und zytoplasmatischen Strukturen zugeordnet werden. Für die Routine sind neben den *Nukleotiden* als Zielantigene insbesondere die als *ENA* (extrahierbare nukleäre Antigene) bezeichneten Antigene relevant:

- U1-snRNP,
- Sm,
- SS-A und SS-B,
- Scl-70,
- Jo-1.

Autoantikörper gegen definierte Zellstrukturen sind charakteristisch für bestimmte Krankheitsbilder und haben diagnostische Markerfunktion erlangt.

- Nukleosomen: Struktureinheiten des Chromatins mit verschiedenen antigenen Entitäten.
- U1-snRNP: kleine, Uridin reiche Ribonukleoproteinkomplexe (RNS Moleküle und Proteine), sog. Speißosome.

- Ro scRNP: heterogene Ribonukleoproteinkomplexe mit der alternativen Bezeichnung hyRNP (*h* = heterogen und *y* = zytoplasmatisch), die sowohl im Zellkern als auch im Zytoplasma auftreten.
- U3-nRNP, andere RNP Partikel: verschiedene nukleäre und nukleoläre RNP Partikel, z.B. Fibrillarin, ein basisches Protein in fibrillären Strukturen der Nukleoli.
- Nukleäre Enzyme: DNS-Topoisomerasen, Polymerasen u.a.
- Mitose-assoziierte Proteine: Antigene des mitotischen Spindelapparates (MSA), NuMA-1, Centriol, Zentromer u.a.

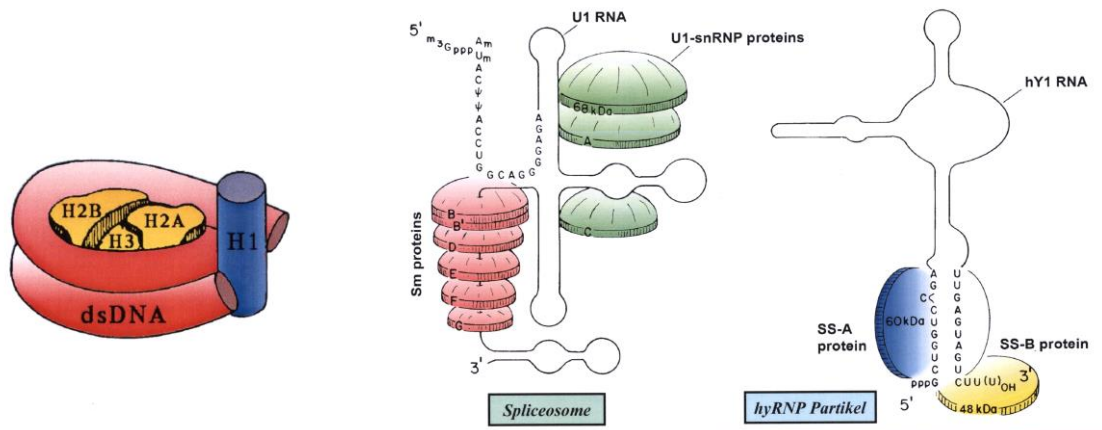


Abbildung: Hauptantigene beim SLE, Molekülstrukturen nach J.A.HARDIN (The lupus autoantigens and the pathogenesis of systemic lupus erythematosus, *Arthritis Rheum* 1986, 29:457-460). Das Nukleosom ist das wichtigste Kernantigen. Weitere wichtige Antigenkomplexe sind U1snRNP (Spleißosom) und Ro scRNP (hyRNP) mit ihren Proteinen, siehe Text.

Die Nomenklatur vieler Antigen-Antikörper-Systeme ist historisch bedingt und leitet sich teils von den biochemischen Merkmalen ab und teils von den assoziierten Erkrankungen bzw. vom Namen der Patienten, bei denen diese Antikörper erstmals beschrieben wurden.

Bei den Antikörpern gegen Polynukleotide unterscheidet man solche, die gegen dsDNS, ssDNS, Histone und Nukleosomen gerichtet sein können. **Nukleosomen** und **dsDNS** sind beim systemischen Lupus erythematosus die ausschlaggebenden Antigenstrukturen, die beim Patienten zur Antikörperbildung führen. Die DNS ist in einem Chromosom dicht gepackt. Bei der Betrachtung eines „entknäuelten“ Chromatinfadens stellt sich der Feinbau dar. Das Erbmateriale liegt dabei nicht als einfacher DNS-Doppelstrang vor, sondern er strukturiert sich vielmehr aus kompakten Untereinheiten, die in ihrem Aufbau bei allen Eukaryonten gleich sind. Diese Untereinheiten werden als Nukleosomen bezeichnet.

Nukleosomen repräsentieren die erste Verpackungsstufe der Erbsubstanz. Nukleosomen sind Komplexe aus Histonen und dsDNS. Um ein Histon-Oktamer (Histonkern, auch Core-Partikel genannt, bestehend aus vier Homodimeren H2A, H2B, H3 und H4) wickelt sich die dsDNS in gleichförmigen Abschnitten, und jeder Abschnitt besteht aus 146 Basenpaaren. An jedem Nukleosom hängt nach aussen noch ein Histon H1, dessen genaue Position und Bedeutung noch nicht ganz aufgeklärt ist. Benachbarte Nukleosomen werden über sog. Linker-DNS, das sind 8 bis 114 Basenpaare, miteinander verbunden und bilden aneinander gereihte Strukturen ähnlich wie Perlen auf einer Perlenkette.

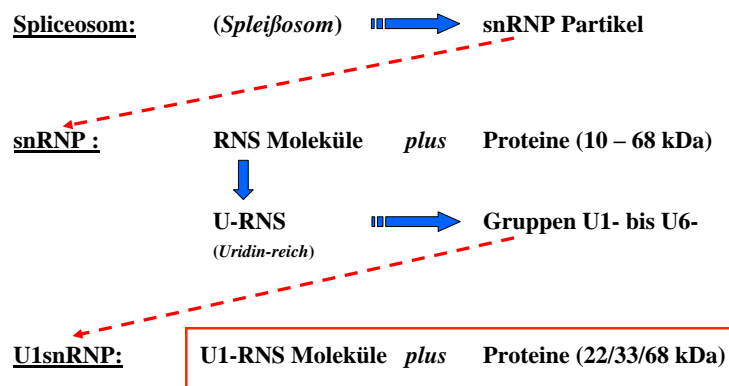
Als Solenoid-Modell wickelt sich die „Perlenkette“ in Form einer Spule weiter auf. Nach neueren Untersuchungen kann die DNS-Eiweisskette vielfältige helikale Anordnungen einnehmen, die sich z.B. in einer Zickzackstruktur aufwickelt und damit eine zweite Verpackungsstufe darstellt. Die Bedeutung dieser Strukturform liegt einerseits in der Komprimierung von DNS im Zellkern und andererseits können entfernt voneinander liegende Gene sich nunmehr in räumlicher Nachbarschaft befinden. Steuerelemente (z.B. Proteine, Enzyme) können somit entfernte Genorte gleichzeitig und in gegenseitiger Abhängigkeit beeinflussen.

Autoantikörper gegen native Nukleinsäure, **dsDNS**, reagieren mit dem Desoxyribophosphat-Gerüst des DNA-Moleküls und unterscheiden sich von Antikörpern gegen einzelsträngige denaturierte DNA (**ssDNS**), die an Epitope von Purin- und Pyrimidinbasen binden. Für den systemischen Lupus erythematoses (SLE) sind neben den Sm-Antikörpern vor allem die gegen Nukleosomen/native dsDNA gerichteten Antikörper von prominenter Bedeutung. Demgemäß ist der Nachweis von pathologischen Antikörpertitern ein wichtiges Klassifikationskriterium zur Diagnostik des SLE (American College of Rheumatology). Die Konzentration der Antikörper korreliert häufig mit der Aktivität der Erkrankung und kann eine Therapiekontrolle begleiten. Die Antikörper gegen **ssDNS** werden außer beim SLE auch bei vielen anderen Autoimmunerkrankungen festgestellt und sind für die Diagnose des SLE im Wesentlichen überflüssig.

Neben den Nukleosomen sind **Ribonukleoprotein (RNP) Partikel** als weitere wichtige Antigene hervorzuheben, die früher auch unter der Bezeichnung ENA (extrahierbare nukleäre Antigene) geführt wurden. Die Synthese der RNP-Komponenten findet im Zellkern und im Zytoplasma statt, z.B. verlassen U-RNS Moleküle den Zellkern und werden im Zytoplasma mit Proteinkomponenten komplettiert (Sm-Antigene). Andere Strukturelemente wie die Proteine 68-70 kDa, A und C wandern vom Zytoplasma in den Zellkern und binden dort an ihre Zielstruktur (RNP). Dieser nukleo-zytoplasmatische Shuttle erklärt die nukleären und zytoplasmatischen Fluoreszenzmuster im ANA-IFT.

Von den verschiedenen nukleären RNPs sind insbesondere die **U1-snRNP Partikel** und die **hyRNP Partikel** zu nennen. Diese RNP Partikel bestehen aus einsträngiger RNS und definierten Proteinen, die bei bestimmten Autoimmunerkrankungen zur Antikörperbildung führen.

### U1snRNP Moleküle (Spleißosome)



**U1-snRNP** sind Uridin reiche (U-RNS) kleine nukleäre RNP Partikel (small nuclear ribonucleoproteins, snRNP), die auch U-snRNP genannt werden (**Uridin-rich small nuclear ribonucleoprotein particles**). Es handelt sich um Komplexe aus Boten-RNS (mRNA) und Proteinen. Aufgrund ihres chromatographischen Verhaltens, bedingt durch die jeweilige Menge an Uridin, werden U-RNS Moleküle in die Gruppen  $U_1$  bis  $U_n$  eingeteilt. Ihre Funktion besteht im Ausschneiden von Introns und dem Zusammenführen der Exons für die Formation von mRNA.

Proteine und RNS Moleküle bilden sog. Ribonukleoproteine (RNPs), die als Speißosome wirksam sind. Für die Diagnostik haben insbesondere die kleinen U1-RNPs eine hohe Bedeutung (small nuclear RNP, U-snRNP). Auf diesen Molekülen befinden sich neben den **Sm-Proteinen** (die in den meisten U-snRNPs enthalten sind) die spezifischen U1-snRNP Proteine, i.e. **Protein A** (33-34 kDa), **Protein C** (22 kDa) und das **68 kDa Protein**. Als RNP-Antigen im eigentlichen Sinne sind somit die mit U1-RNS komplexierten 68 kD, A- und C-Proteine zu nennen (U1-snRNP). Antikörper gegen U1-snRNP sind gegen eines oder mehrere der im U1-RNP Partikel vorliegenden 68-70 kD, A- und C-Proteine gerichtet und gelten als Biomarker für die Mischkollagenose (MCTD, Sharp-Syndrom); Antikörper mit dem Sammelbegriff snRNP-Antikörper.

Antikörper gegen andere Uridin reiche nukleäre RNP Partikel (U2-RNP u.a.) haben bisher keine diagnostische Bedeutung erlangt oder treten ggf. gemeinsam mit Antikörpern gegen U1-snRNP und Sm auf.

Im Gegensatz zu den Antikörpern gegen U1-snRNP können Antikörper gegen Sm Antigene mit einem Protein oder mit mehreren Proteinen der unterschiedlichen U-RNP Partikel reagieren, i.e. den B, B', D, E, F und G Proteinen. Die **Sm-Proteine** (mit B, B', C, D, E, F und G bezeichnet) kommen praktisch in allen U1 bis U6 Partikeln vor, so dass Antikörper gegen Sm mit mehreren Proteinen (i.e. den B, B', D, E, F und G Proteinen) der unterschiedlichen U-RNP Partikel reagieren. Aus diagnostischer Sicht haben die B- und D-Polypeptide die grösste Bedeutung, weil sie die häufigsten Zielantigene der Sm Antikörper sind.

Die A'- und B'-Proteine haben wegen kreuzreaktiver Epitope auf B/B' und U1-snRNP Proteinen (Proteine A und C) keine weitere Bedeutung. Aufgrund der hohen Spezifität der D-Proteine werden vor allem Assays mit rekombinanten SmD1-Protein oder SmD1- und SmD3-Peptiden favorisiert. Durch den Einsatz von sehr sensitiven Nachweisverfahren (z.B. Enzymimmunoassays) kann die diagnostische Sensitivität gesteigert werden. Bezüglich der Spezifität besteht allerdings der Nachteil, dass auch niedrigtitrige Antikörper ohne diagnostische Relevanz erfasst werden.

Die dritte wichtige Gruppe von Kernantigenen wird durch Proteine der **hyRNP Partikel** repräsentiert (h = heterogen und y = cytoplasmatisch), auch als Ro scRNP bezeichnet. Bei diesen RNP Partikeln handelt es sich um kleine Ribonukleoprotein Komplexe, bestehend aus einzelsträngiger Uridin-reicher RNS (hY1-, hY3-, hY4-, hY5- RNA mit einer Länge von ca. 80-112 Basen) und Proteinkomponenten. Das wichtigste Protein ist das **SS-A/Ro-60 kDa Protein**(Ro-Protein), das ein unmittelbarer Bestandteil der hyRNP Partikel ist und an der Translation ribosomaler Proteine beteiligt ist. Ein zweites Polypeptid, das **SS-A/Ro-52 kDa Protein**, ist über Protein-Protein Wechselwirkung mit dem SS-A/Ro-60 kDa Protein assoziiert. Ein anderer wichtiger Bestandteil der hyRNP Partikel ist **SS-B/La**, ein Phosphoprotein mit 48 kDa (La-Protein). SS-B/La besitzt Eigenschaften als Transkriptionsfaktor der RNA-Polymerase III und ist beteiligt an der Termination der Transkription.

**SS-A (Ro)** und **SS-B (La)** können aufgrund verschiedener Funktionszustände der Zelle im Sinne eines nukleozytoplasmatischen *shuttle* sowohl dem nukleären als auch dem zytoplasmatischen Raum zugeordnet werden. Dies erklärt die variablen morphologischen Muster im ANA-IFT. Das SS-A (Ro) Antigen ist ein kleines Ribonukleoprotein und besteht aus einzelsträngiger Uridin-reicher RNA (Y1-, Y2-, Y3-, Y4- oder Y5-RNA mit einer Länge von ca. 80-112 Basen) und zwei Proteinen (Molekulargewichte von 52 und 60 kDa) gemäß SDS-Elektrophorese. Das Polypeptid mit 60 kDa ist das wichtigste Protein. Es ist direkt an die RNA gebunden. Das zweite Polypeptid von 52 kDa ist über Protein-Protein Wechselwirkung mit dem SS-A/Ro 60 (60 kDa) Protein assoziiert.

Für das Sjögren-Syndrom sind Antikörper gegen das **SS-A/Ro 60** Protein diagnostisch relevant. Verschiedene Autoren konnten zeigen, daß Epitope, die von Anti-SS-A/Ro 52 Antikörpern erkannt werden, auf dem nativen SS-A/Ro Partikel nicht zugänglich sind. In diesem Zusammenhang wird diskutiert, daß solche Antikörper, die nur mit dem SS-A/Ro 52 reagieren (also nicht mit dem SS-A/Ro 60), folglich nicht mit den definierten Sjögren-Syndrom assoziierten Anti-SS-A/Ro Antikörpern korrespondieren und demnach auch kein relevanter Marker für das Sjögren-Syndrom sind.

Antikörper gegen **SS-A/Ro 52** werden häufig in Seren von Patienten mit Myositis (z.B. zusammen mit anderen Myositis typischen Antikörpern wie Anti-Jo-1 oder Anti-PM-Scl) und verschiedenen anderen Erkrankungen nachgewiesen. Die isoliert auftretende positive Reaktion gegen SS-A/Ro 52 gilt sinngemäß wie zuvor beschrieben als nicht spezifisch für das primäre Sjögren-Syndrom. Antikörper gegen SS-A/Ro 52 sollen eher typisch für das sekundäre Sjögren-Syndrom im Rahmen anderer Kollagenosen (z.B. Myositis) sein. Zur abschließenden Bewertung stehen weitere Untersuchungen aus. Eine wichtige klinische Bedeutung wird hingegen dem Auftreten von Antikörpern gegen SS-A/Ro 52 in speziellen Fällen zugeschrieben: Antikörper gegen SS-A/Ro 52 gelten als prognostische Marker für das neonatale Lupus-Syndrom: bei Schwangeren mit SLE bzw. Sjögren-Syndrom stellen solche Antikörper ein erhöhtes Risiko für einen kongenitalen Herzblock beim Säugling dar.

Das **SS-B (La) Antigen** (Sjögren syndrome associated antigen B) ist ein Phosphoprotein mit einem Molekulargewicht von 48 kDa und fungiert als Hilfsprotein der RNA-Polymerase III. Antikörper gegen SS-B gelten als wichtiger Marker für das Sjögren-Syndrom, da sie auch bei Patienten ohne Symptome auftreten.

## **Andere Autoantigene bei Kollagenosen**

Zusätzlich zu den eben beschriebenen Zellstrukturen gibt es weitere, diagnostisch relevante Autoantigene, von denen die wichtigsten Entitäten in einer Übersicht skizziert werden (CONRAD K et al., *Autoantikörper bei systemischen Autoimmunerkrankungen*, Pabst Science Publishers, Lengerich, 2012).

**Fibrillarin**, ein basisches Protein mit einem Molekulargewicht von 34 kDa, ist in fibrillären Strukturen der Nukleoli enthalten und Bestandteil eines RNP Partikels (U3-nRNP). Neben Fibrillarin enthält U3-nRNP fünf weitere Proteine und ein Molekül Uridin-reiche nukleäre RNA (U3-nRNS).

Antikörper gegen **Histone** (H2A/H2B, H3, H4) haben beim SLE eine hohe Prävalenz. Von besonderer Bedeutung sind diese Antikörper aber vor allem für die Diagnose von Medikamenten induzierten Lupus-Syndromen. Histone sind basische DNA-assoziierte Proteine mit einem Molekulargewicht zwischen 11,2 und 21,5 kDa. Sie bilden als Strukturelemente des Chromatins mit der DNA die hochorganisierten Nukleosomen.

**PM-Scl (PM-1)** ist vorwiegend im Nukleolus lokalisiert und besteht aus 16 Polypeptiden mit Molekulargewichten zwischen 20 und 110 kDa. Im Western Blot werden nur zwei Proteine mit dem Molekulargewicht 80 und 100 kDa gefärbt.

Chromosomen werden durch das **Centromer** in zwei Arme gegliedert. Hier finden sich mehrere Proteine und bilden den Kinetochor (Anheftungsstelle für Mikrotubuli). Die wichtigsten im Zusammenhang mit einer Autoantigenität stehenden Centromer-Proteine sind CENP-A (17 kDa), -B (80 kDa), -C (140 kDa), -D (50 kDa). Zwischen CENP und dem centromeren Heterochromatin humaner Chromosomen besteht eine enge Interaktion, seine Bindung an alphoider Satelliten-DNA wurde beschrieben. Das **Centromerprotein B (CENP-B)** ist das zur Zeit am besten charakterisierte humane Centromerprotein. Mit der indirekten Immunfluoreszenz wurde bei Anti-Centromer-positiven Patienten mit Raynaud-Symptomatik eine 100% Korrelation zum Anti-CENP-B Ergebnis im Western Blot erzielt.

Das antigene Target für den Autoantikörper gegen **Scl-70** wurde zunächst als ein 70 kDa Chromatin-Antigen, später dann mit der Immunoblot-Technik als Protein mit einem höheren Molekulargewicht im Bereich zwischen 86 und 105 kDa, beschrieben. Es stellte sich schließlich heraus, daß Anti-Scl-70-Antikörper mit dem Enzym DNA-Topoisomerase I (basisches Nicht-Histonprotein, 100 kDa) reagieren. Proteolytische Degradation, in Abhängigkeit von Proteinase-Inhibitoren, ist für die Entstehung des 70 kDa-Fragments verantwortlich. DNA-Topoisomerase I ist im Nukleoplasma und im Nukleolus (in besonders hoher Konzentration) lokalisiert. Mit HEp-2-Zellen wird eine beinahe homogene nukleäre Immunfluoreszenz mit betont sichtbaren Nukleoli beobachtet. Das Enzym ist an der Replikation und der Transkription der DNA-Doppelhelix beteiligt.

Allgemein können bei Kollagenosen neben den typischen ANAs auch **Zytoplasma reaktive Antikörper** beobachtet werden. Im Zytoplasma gibt es naturgemäß eine Vielzahl von Antigenen. Mit der indirekten Immunfluoreszenz können unter Verwendung von HEp-2-Zellen die korrespondierenden Antikörper im gleichen Testansatz wie ANA nachgewiesen werden. Die Identifizierung der mit dem Zytoplasma reagierenden Antikörper ist oft nicht leicht, so daß dann zusätzliche Testansätze mit anderen Methoden notwendig sind. Beispiele für diagnostisch relevante Antikörper sind solche gegen **Jo-1** und **ribosomale Antigene**. Bei Überlappungs-Syndromen mit anderen Immunopathien kann die auf der HEp-2-Zelle erkennbare charakteristische Immunfluoreszenz von **Mitochondrien** z.B. auf eine PBC (primäre biliäre Zirrhose) hinweisen und somit Anlaß für weitere Untersuchungen geben.

Bei Patienten mit Polymyositis (idiopathisch entzündliche Myopathie) sind die relevanten Antikörper überwiegend im Zytoplasma lokalisiert. Es handelt sich um verschiedene Aminoacyl-tRNA-Synthetasen, deren wichtigster Vertreter das als **Jo-1 (Histidyl-tRNA-Synthetase)** bekannt gewordene Autoantigen ist. Den Autoantikörpern gegen Aminoacyl-tRNA-Synthetase kommt Markerfunktion für die Subgruppe der Myositiden mit Lungenbeteiligung zu, die gekennzeichnet ist durch eine starke Assoziation zum HLA-DR3 und HLA-DRw52 Haplotyp.

Darüber hinaus können in geeigneten Präparaten von HEp-2-Zellen aufgrund charakteristischer Fluoreszenzmuster Antikörper gegen verschiedene **Mitose-assoziierte Antigene** identifiziert werden. Der Nachweis derartiger Autoantikörper wird einerseits mit progressiver Systemsklerose und andererseits mit dem Auftreten von proliferativen Erkrankungen diskutiert. Eine endgültige diagnostische Bewertung steht aber noch aus.

Autoantigen	Beschreibung	IFT-Muster
<b>Fibrillarin</b>	34 kDa Protein, Hauptkomponente der U3-snoRNP Komplexe (small nucleolar ribonucleoprotein); beteiligt an der Prozessierung und der Methylierung von Prä-rRNA	Nukleolus: granulär-schollig (clumpy); in Metaphase auch chromosomale Färbung
<b>Histone</b>	Basische Proteine: H1 (26.5 kDa), H2A (14 kDa), H2B (13.8 kDa), H3 (15.3 kDa), H4 (10.2 kDa); Histone bilden mit der dsDNS das Nukleosom	Nukleoplasma, Chromosomen: homogen in Interphasekernen und in der Chromatinregion während der Mitosephasen
<b>Jo-1</b>	Histidyl-tRNA-Synthetase (HRS), 50-52 kDa Protein	Zytoplasma: feingranulär, diffus
<b>Ku (p70/p80)</b>	DNS bindende Non-Histon-Proteine (p70/p80 Heterodimer); Bindeglied für die katalytische Untereinheit (p350) der DNS abhängigen Proteinkinase (DNA-PK)	(a) Nukleoplasma: feingranulär dicht und/oder diffus, häufig auch der Chromosomen (b) Nukleolus: dicht feingranulär, weniger intensiv als Nukleoplasma
<b>Mi-2</b>	Nukleäre Proteine mit Molekulargewicht zwischen 34 und 240 kDa (unklar, ob individuelle Komponenten eines makromolekularen Komplexes oder Degradationsprodukte oder unabhängige Antigene mit Kreuzreaktion); Hauptantigen ist das 235-240 kDa Protein (Helicase, dient dem ATP abhängigen Umbau von Nukleosomen)	Nukleoplasma: feingranulär mit (oft) ausgesparten Nukleoli
<b>PCNA (Cyclin)</b>	<i>Proliferating cell nuclear antigen</i> , Helferprotein (36 kDa) der DNS-Polymerase (Delta) mit Zellzyklus abhängiger Expression	Nukleoplasma: charakteristische pleomorphe, granuläre Verteilung entsprechend des Zellzyklus, i.e. negativ in G1-Phase, schwach granulär in früher S-Phase, granulär in mittlerer S-Phase (ohne Nukleoli) und granulär mit Prominenz der Nukleoli in später S-Phase
<b>Phospholipide</b> (verschiedene)	Anionische und neutrale Phospholipide: (a) Cardiolipin (Diphosphatidyl-Glycerol) (b) $\beta_2$ -Glykoprotein I ( $\beta_2$ -GP I) (c) Lupus-Antikoagulans (d) andere Phospholipide, z.B. Phosphatidylcholin, Phosphatidylethanolamin, Phosphatidylinositol, Phosphatidylserin, Phosphatidsäure	(a) Nachweis im Serum: relevante Antikörper erfordern in der Regel im Testansatz die Anwesenheit von Kofaktoren: die grösste Bedeutung hat hierbei $\beta_2$ -GP I (b) Gerinnung: verlängerte Globaltests durch Inhibition des intrinsischen Gerinnungswegs
<b>PM-Scl</b>	Multiproteinkomplex (Exosom) aus 11-16 Proteinen zwischen 20 und 110 kDa, Hauptantigene sind PM-100 und PM-75; Exoribonukleasen im Rahmen des Spleissens von mRNA und rRNA	Nukleolus: homogen, glatt begrenzt oft kombiniert mit schwacher Fluoreszenz des Nukleoplasmas
<b>Ribosomale P Proteine</b> (P0, P1, P2)	Saure Phosphoproteine P0 (38 kDa), P1 (19 kDa) und P2 (17 kDa) der 60 S Untereinheit des	Zytoplasma: feingranulär, wolkig; ggf. Nukleoli homogen

	ribosomalen RNP Komplexes	
<b>RNA Polymerase I, II, III</b> (RNAP-I, RNAP-II, RNAP-III)	Untereinheiten der RNAPs (Polymerasen); Multiproteinkomplexe (a) RNAP-I: Protein IA (190 kDa) und Protein IB (126 kDa); Transkription von rRNA (b) RNAP-II: Protein IIA (145-220 kDa); Transkription von mRNA (c) RNAP-III: Protein IIIA (155 kDa) und IIIB (138 kDa); Transkription von 5S rRNA, tRNA u.a. RNAs	(a) Nukleoplasma (RNAP II, RNAP III): granulär (b) Nukleolus (RNAP I): granulär-punktiert, Nukleoli durch dunklen Hof abgegrenzt
<b>Scl-70</b>	DNA-Topoisomerase I, Helicase, natives 100 kDa (70 und 86 kDa Spaltprodukte); katalysiert das Aufschneiden und die Entwindung der superhelikalen DNS sowie die Strangbruchkorrektur	(a) Nukleoplasma: feingranulär bis homogen und Chromatin mitotischer Zellen (b) Nukleolus: ringförmig
<b>SRP (SRP54)</b>	<i>Signal Recognition Particle</i> ; RNP Komplex aus 6 Polypeptiden und einem tRNA ähnlichen Molekül (7SL RNA), Hauptantigen ist ein 54 kDa Protein; Transport von neu gebildeten Proteinen in das endoplasmatische Retikulum	Zytoplasma: diffus granulär
<b>Th/To RNP (Wa)</b>	Nukleoläre Endonuklease; 40 kDa Protein des 7-2/MRP RNP Komplexes	Nukleolus: homogen
<b>tRNA-Synthetasen</b> , z.B. Alanyl-tRNA-Synth. (PL-12) Glycyl-tRNA-Synth. (EJ) Histidyl-tRNA-Synth. (Jo-1) Isoleucyl -tRNA-Synth. (OJ1) Threonyl-tRNA-Synth. (PL-7)	Aminoacyl-tRNA-Synthetasen; Synthetasen katalysieren die Bindung der tRNA an entsprechende Aminosäuren	Zytoplasma: feingranulär, diffus
<b>Zentromer</b>	Zentromer assoziierte Proteine: CENP-A (19kDa), CENP-B (80 kDa), CENP-C (140 kDa), CENP-D (50 kDa), CENP-E (312 kDa), CENP-F (367 kDa); häufigstes Zielantigen ist CENP-B; verantwortlich für die koordinierte Trennung der Chromatiden während der Mitose	Nukleoplasma, Chromosomen: charakteristische granuläre Spots in Interphasekernen entsprechend der Anzahl der Chromosomen; in Mitose liegen die Spots in der Äquatorialebene

Zahlreiche Autoantigene – Proteine, Enzyme und partikuläre Strukturen – haben biologische Funktionen, die durch inhibitorische Eigenschaften der Autoantikörper erkennbar sind: DNS Replikation, DNS Transkription, Spleissen von prä-mRNS, Amino-Acylierung von tRNS, Zellteilung, Proteinsynthese und Proteintransport, um hier einige Funktionen zu nennen. Eine kategorische Zuordnung der biologisch aktiven Antigenstrukturen zu definierten zellulären Bereichen (z.B. Zellkern, Nukleolus, Zytoplasma) ist für das Verständnis nicht unbedingt erforderlich, obwohl während Zellwachstum und Zelldifferenzierung die biologische Aktivität tatsächlich bestimmten Kompartments zugeordnet werden kann.



Die diagnostische Bedeutung von Autoantikörpern gegen Zellkern- und Zytoplasmabestandteile ist heute anerkannt. Ihre Rolle in der Pathogenese erfordert noch intensive klinische, zell- und molekularbiologische Arbeiten.

## **Pathogenese von systemischen Autoimmunerkrankungen**

Für eine Reihe von Erkrankungen gibt es deutliche Hinweise, daß Autoantikörper bei der Krankheitsentstehung ursächlich beteiligt sind. Die auftretenden Schäden werden als Folge des Autoimmunprozesses angesehen. In welchem Zusammenhang Autoantikörper mit dem Krankheitsprozess auch immer stehen mögen, für die Diagnose sind sie von grossem Wert, ihr Nachweis ermöglicht die differentialdiagnostische Abklärung gegenüber anderen Krankheiten. Eine effektive und sensitive Diagnostik ist für die frühzeitige Einleitung einer Behandlung wichtig, ggf. dient der Nachweis von Autoantikörpern auch der Prognose.

Störung der Regulation ist der Anfang für die Auslösung von Autoimmunerkrankungen. Der Übergang von Autoimmunphänomenen zur Autoimmunerkrankung ist fließend und erfordert mehr als die Sensibilisierung mit Autoantigenen. Die eigentliche Autoimmunerkrankung beginnt mit der Bildung von nennenswerten Mengen an zirkulierenden Autoantikörpern. Für die Auslösung der Krankheit sind, abgesehen von der Zugänglichkeit des Autoantigens für die immunologischen Effektoren, die Entzündungsreaktionen als immunpathologisches Prinzip von Bedeutung; Mechanismen der kontinuierlichen oder schubweisen Selbsterhaltung führen zur Chronizität der Erkrankung. Der systemische Charakter ist assoziiert mit ausgeprägten Bindegewebsreaktionen. Entstehende Arthralgien und Arthritiden sind ein sensibler Indikator für die Generalisierung einer Autoimmunerkrankung, die bei Patienten im fortgeschrittenen Lebensalter nicht auf degenerative Gelenkerkrankungen zurückgeführt werden dürfen.

Ungleichgewicht im Immunsystem verursacht Reaktionen, die klinisch klassifiziert und unter dem Begriff Hypersensitivitätserkrankungen geführt werden. Die Nomenklatur erfolgt nach pathophysiologischen Gesichtspunkten, die unter Berücksichtigung der Mechanismen der Gewebeschädigung nach COOMBS und GELL (1963) vier Reaktionstypen (Überempfindlichkeitsreaktionen) bezeichnet. Die systemischen Kollagenosen (z.B. Lupus) werden der Immunreaktion vom Typ III zugeordnet.

- Typ I: Auslöser sind spezifische IgE Antikörper und Mastzellaktivierung, z.B. bei der allergischen Rhinitis.
- Typ II: IgG Antikörper und zell- oder matrixassoziierte Antigene. Zu den Effektoren gehören NK-Zellen, das Komplementsystem und Zellen mit Komplementrezeptoren. Beispiele sind Medikamentenallergien.
- Typ III: Zirkulierende Antikörper, lösliches Antigen und die Entstehung von löslichen Immunkomplexen. Der Krankheitsablauf wird durch die Ablagerung in kleinen Blutgefässen und der Aktivierung von Komplementfaktoren bestimmt. Die sog. Serumkrankheit (Arthus-Phänomen) ist beispielhaft.
- Typ IV: Spezifische T-Zellen, lösliche oder zellassoziierte Antigene. Der pathogene Effekt läuft über Makrophagenaktivierung und Zytotoxizität. Typische Beispiele sind die Kontaktdermatitis und die Tuberkulinreaktion.

Bei der Typ III Immunreaktion geht die immunpathologische Wirkung von den zirkulierenden Immunkomplexen aus. Grundsätzlich sind Immunkomplexe als Produkte des regulären Abwehrsystems anzusehen. Sie entstehen beispielsweise bei der Abwehr von

Krankheitserregern. Immunkomplexe wirken erst krankmachend, wenn ihre Bildung überschüssend ist und eine Störung des Abbaus vorliegt. Im klassischen Fall einer chronischen Autoimmunerkrankung entstehen ständig zirkulierende Immunkomplexe. Die krankmachende Wirkung ist auf Eigenschaften zurückzuführen, die mit der Grösse der Immunkomplexe und ihrer Clearance zusammenhängen. Eine gestörte Clearance weist auf Rezeptordefekte der verschiedenen beteiligten Zelltypen. Die Art der Immunkomplexe und die lange Persistenz in der Zirkulation führen zur Bereitschaft einer Ablagerung in Blutgefässen.

Eine durch zirkulierende Immunkomplexe (CIC) ausgelöste Organschädigung beginnt mit ihrer Ablagerung im Kapillarnetz und in kleinen Blutgefässen. Grundsätzlich können alle Organsysteme betroffen sein; Haut, Synovialis und Niere gelten als wichtige Zielorgane. Die Ablagerungen lösen entzündliche Reaktionen aus und Organschäden sind die Folge.

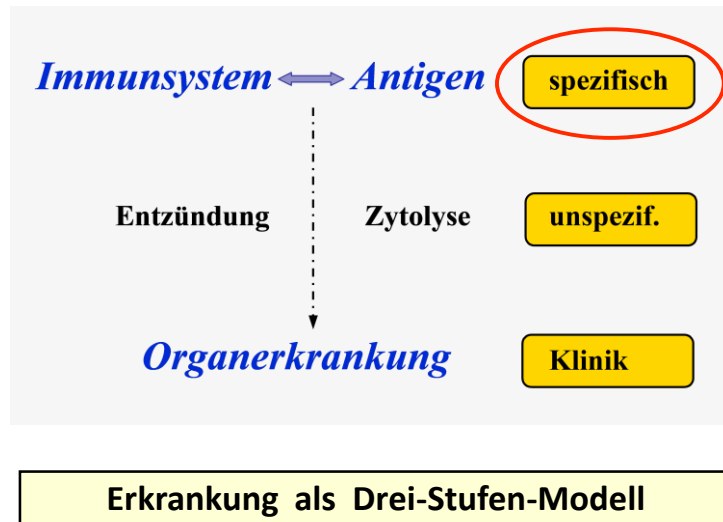
- Aktivierung des Komplementsystems: Im Bereich der abgelagerten, meist mittelgrossen Immunkomplexe kommt es zur Komplementbindung und zur Komplementaktivierung.
- Freisetzung von Spaltprodukten: Während der Kaskade einer Komplementaktivierung, (bis zur Ausbildung des Membran attackierenden Komplexes, MAC), werden leukotaktische und inflammatorische Spaltprodukte freigesetzt.
- Chemotaxis: Komplementspaltprodukte führen zur lokalen Ansammlung von Leukozyten, die ihrerseits Entzündungsmediatoren freisetzen und vielfältige Entzündungsreaktionen auslösen.
- Weitere Mediatoren: Während der einsetzenden Phagozytose werden weitere Mediatoren mit eigenständiger Bildung von Signalstoffen aus dem umgebenden Gewebe generiert, die den Vorgang verstärken.

Am Ende der Reaktionskette entwickelt sich eine Immunkomplexkrankheit (Vaskulitis), die als Hypersensitivitätsreaktion vom Typ III (nach COOMBS und GELL) bezeichnet wird. Eine Chronizität der Vorgänge leitet in Organschädigung über.

Die Krankheitsentstehung, bei der das Immunsystem im Sinne einer Hypersensitivitätsreaktivität massgeblich beteiligt ist, lässt sich vereinfacht skizzieren: Ohne Antigen gibt es keine spezifische Immunantwort (z.B. Antikörper) und ohne Antigen-Antikörperreaktion entwickelt sich kein klinisches Symptom. Die Präsenz von Antigen, Antikörper und ihre Interaktion lässt klinische Bilder entstehen, die in letzter Konsequenz durch Abläufe des angeborenen Immunsystems geprägt werden.

- Adaptives Immunsystem: Die Antwort des adaptiven Immunsystems auf antigenes Material ist der spezifische Auslöser für die Bildung von Antikörpern und Start für die Krankheitsentstehung.
- Angeborenes Immunsystem: Die reaktive Einbeziehung des angeborenen Immunsystems mit der komplexen Kaskade entzündlicher Abläufe repräsentiert aus immunologischer Sicht die sog. unspezifische Achse.
- Klinik: Die Auswirkungen der spezifischen und unspezifischen Immunreaktionen im Organbereich ergeben die klinischen Bilder.

## Krankheit durch Hyperreaktivität des Immunsystems



Für die Diagnostik in der meist langen präklinischen Phase kommen vorwiegend Autoantikörper zur Anwendung. Für eine Aussage zur Krankheitsaktivität und für die Ansprechbarkeit auf Therapieformen sind diese in der Regel nur eingeschränkt nutzbar. Es fehlen auch geeignete Marker für eine sichere Frühdiagnostik und für die Einschätzung der Krankheitsprognose oder einer Organmanifestation. Aktuell beschränkt sich die Labordiagnostik auf die Messung von Antikörpern (organtypische, organspezifische Autoantikörper) und Entzündungsparametern. Die Differentialdiagnose wird oftmals durch eine Vielzahl von Autoantikörpern erschwert, die zu verschiedenen Zeitpunkten während der Krankheitsentwicklung erscheinen.

Vor allem die systemischen Autoimmunerkrankungen zeichnen sich durch schubweisen Verlauf aus und sind geprägt durch klinische Subsets und Überlappungsformen. Antikörper können gegen ein Zielantigen eines bestimmten Organs gerichtet sein oder gegen Molekülkomplexe, die in verschiedenen Organen gleichermassen vorkommen und zu einer generalisierten Erkrankung führen.

Zielorgane der organspezifischen Erkrankungen können z.B. die Schilddrüse, der Magen oder die Nebenniere sein. Zu den nicht-organspezifischen Erkrankungen gehören die Kollagenosen, die auch unter dem Begriff *Systemerkrankungen* zusammengefaßt und als Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises bezeichnet werden. Haut, Gelenke, Muskeln und innere Organe sind bevorzugt betroffen; häufig wird auch eine Beteiligung der Nieren festgestellt.

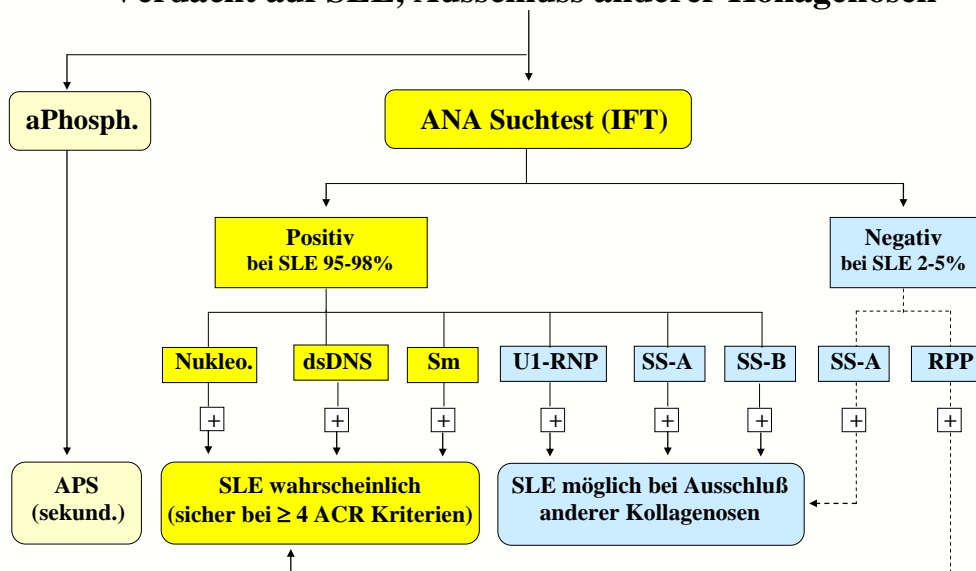
Bei Verdacht auf eine Kollagenose sollte zuerst ein ANA-Immunfluoreszenztest (ANA-IFT als Suchtest, indirekter Immunfluoreszenztest) durchgeführt werden. Bevorzugte Standardtechnik ist der mikroskopische IFT mit humanen Epithelzellen (HEp-2-Zellen, Zellkultur). Negative Testergebnisse können eine Erkrankung nicht ausschließen, das weitere Vorgehen hängt vom klinischen Bild des Patienten ab. Ein positiver ANA-Suchtest ist dann Anlass für weiterführende Untersuchungen, vgl. *Antikörper der ANA-Gruppe bei Kollagenosen* ([http://www.immunologie-labor.com/service\\_files/fach\\_kollagenose.pdf](http://www.immunologie-labor.com/service_files/fach_kollagenose.pdf)).

Mit dem ANA-IFT Globaltest ermöglichen die Fluoreszenzmuster (z.B. homogen, gesprenkelt, ringförmig, nukleolär) Rückschlüsse auf die reagierenden Antikörper. Wenn mehrere Antikörper-Spezifitäten gleichzeitig vorliegen, dann erschweren allerdings die überlappenden Muster eine Auswertung. Bei positiven Patientenproben sollten zusätzliche Analysen zur Feststellung definierter Autoantikörper angeschlossen werden. Hierzu zählen neben der klassischen Gelddiffusionstechnik (Ouchterlony) und der Gegenstromelektrophorese vornehmlich Immunoblot-Techniken, Enzymimmunoassays (ELISA) und Multiplex-Analysen. Der Einsatz von nativen und rekombinant hergestellten Antigenen ist von grosser Bedeutung für Reproduzierbarkeit, Spezifität und Quantifizierung der Analysen.

Bei *homogenem* IFT-Muster (mit positiver Reaktion der Chromosomenregion in mitotischen Zellen) richtet sich das Augenmerk auf Antikörper gegen dsDNS, Nukleosomen, ssDNS, und Histone. Selten ist ein einziges Testverfahren zielführend, so dass zur Befundabsicherung verschiedene Methoden eingesetzt werden sollten. Es ist wichtig, positive Testergebnisse im Dialog mit dem behandelnden Arzt zu besprechen, um das weitere Vorgehen festzulegen.

## Serologische Diagnostik

### Verdacht auf SLE, Ausschluss anderer Kollagenosen



<b>Antigen</b>	<b>Krankheitsbild</b>	<b>Vorkommen (%)</b>
<b>dsDNS</b>	Systemischer Lupus erythematoses (SLE)	60-95
<b>Nukleosomen</b>	Systemischer Lupus erythematoses (SLE)	60-90
<b>ssDNS</b>	Systemischer Lupus erythematoses (SLE) Medikamenten-induzierter Lupus Mischkollagenose (Sharp Syndrom) Dermatomyositis, Polymyositis Systemische Sklerose, Sjögren Syndrom	70-95 60 20-50 40-50 10-15
<b>Histone</b>	Systemischer Lupus erythematoses (SLE) Medikamenten-induzierter Lupus Rheumatoide Arthritis	30-80 60-100 10-50
<b>Sm</b>	Systemischer Lupus erythematoses (SLE)	10-30
<b>PCNA</b>	Systemischer Lupus erythematoses (SLE)	< 1
<b>U1-nRNP</b>	Mischkollagenose (Sharp Syndrom) Systemischer Lupus erythematoses (SLE) Rheumatoide Arthritis (Overlap)	95-100 30-40 < 5
<b>SS-A (Ro)</b>	Sjögren Syndrom Systemischer Lupus erythematoses (SLE) Neonatales Lupus Syndrom	60-100 30-60 90-100
<b>SS-B (La)</b>	Sjögren Syndrom Systemischer Lupus erythematoses (SLE)	40-80 10-20
<b>Ku</b>	Systemischer Lupus erythematoses (SLE) Polymyositis/systemische Sklerose Overlap Sjögren-Syndrom	5-10 5-25 5-20
<b>Fibrillarin</b>	Systemische Sklerose	5-10
<b>RNS-Polymerase I-III</b>	Systemische Sklerose	5-20
<b>Zentromer</b>	CREST-Syndrom (systemische Sklerose, limitierte Form)	80-95
<b>Scl-70</b>	Systemische Sklerose	20-60
<b>PM-Scl (PM-1)</b>	Polymyositis Systemische Sklerose Polymyositis/systemische Sklerose Overlap	5-10 5-10 20-30
<b>To/Th</b>	Systemische Sklerose (limitierte Form, CREST)	4-10
<b>Jo-1</b>	Myositis, Polymyositis/Dermatomyositis	30-50
<b>Aminoacyl-tRNA-Synthetasen</b>	Anti-Synthetasen-Syndrome, idiopathische Myositiden	< 3
<b>Mi-1, Mi-2</b>	Dermatomyositis, Polymyositis	5-20
<b>SRP</b>	Polymyositis	< 5
<b>MAP-2</b>	Systemischer Lupus erythematoses (neuropsychiatrische Form)	60-80
<b>Phospholipide</b> z.B. Cardiolipin, Lupus-Antikoag.	Systemischer Lupus erythematoses (sekundäres Anti-Phospholipid-Syndrom)	20-50
<b>Ribos. P Proteine</b> (P0, P1, P2)	Systemischer Lupus erythematoses (SLE)	10-30

Es bleibt anzuwarten, wann und in welchem Umfang molekularbiologische Untersuchungen im Rahmen sog. personalisierter Diagnostik möglich werden. Neben den rein technisch erzeugten Sequenzdaten (einer NGS-basierten Genomanalyse) ist dann vor allem eine

kompetente bioinformatische Analyse mit medizinischer Befundung von nachgewiesenen Genvarianten notwendig, um Markerfunktion für prognostische und therapeutische Entscheidungen zu erkennen.

## Literatur

- Agmon-Levin, N., Damoiseaux, J., Kallenberg, C. et al. 2014. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis* 73:17-23.
- Alarón-Segovia, D., and Villareal, M. 1987. Classification and diagnostic criteria for MCTD. In *Mixed connective tissue disease and anti-nuclear antibodies*. R. Kasukawa, and G.C. Sharp, editors. Amsterdam: Elsevier. 33-40
- Alderuccio, F., Chan, E.K., and Tan, E.M. 1991. Molecular characterization of an autoantigen of PM-Scl in the polymyositis/scleroderma overlap syndrome: a unique and complete human cDNA encoding an apparent 75-kD acidic protein of the nucleolar complex. *J Exp Med* 173:941-952.
- Alexander, E.L., McNicholl, J., Watson, R.M., Bias, W., Reichlin, M., and Provost, T.T. 1989. The immunogenetic relationship between anti-Ro (SS-A)/La (SS-B) antibody positive Sjogren's/lupus erythematosus overlap syndrome and the neonatal lupus syndrome. *J Invest Dermatol* 93:751-756.
- Alspaugh, M., and Maddison, P. 1979. Resolution of the identity of certain antigen-antibody systems in systemic lupus erythematosus and Sjogren's syndrome: an interlaboratory collaboration. *Arthritis Rheum* 22:796-798.
- Alspaugh, M.A., and Tan, E.M. 1975. Antibodies to cellular antigens in Sjogren's syndrome. *J Clin Invest* 55:1067-1073.
- Alvarez, F., Berg, P.A., Bianchi, F.B., Bianchi, L., Burroughs, A.K., Cancado, E.L., Chapman, R.W., Cooksley, W.G., Czaja, A.J., Desmet, V.J., et al. 1999. International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 31:929-938.
- American College of Rheumatology 2009. Position statement. Methodology of testing for antinuclear antibodies. Internet: [http://www.rheumatology.org/practice/clinical/position/ana\\_position\\_stmt.pdf](http://www.rheumatology.org/practice/clinical/position/ana_position_stmt.pdf)
- Amoura, Z., Piette, J.C., Bach, J.F., and Koutouzov, S. 1999. The key role of nucleosomes in lupus. *Arthritis Rheum* 42:833-843.
- Andrade, L.E., Chan, E.K., Peebles, C.L., and Tan, E.M. 1996. Two major autoantigen-antibody systems of the mitotic spindle apparatus. *Arthritis Rheum* 39:1643-1653.
- Andrade, L.E., Chan, E.K., Raska, I., Peebles, C.L., Roos, G., and Tan, E.M. 1991. Human autoantibody to a novel protein of the nuclear coiled body: immunological characterization and cDNA cloning of p80-coilin. *J Exp Med* 173:1407-1419.
- Antico, A., Platzgummer, S., Bassetti, D., Bizzaro, N., Tozzoli, R., Villalta, D., and Study Group on Autoimmune Diseases of the Italian Society of Laboratory Medicine. 2010. Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the Crithidia luciliae immunofluorescence test. *Lupus* 19:906-912.
- Arbuckle, M.R., McClain, M.T., Rubertone, M.V., Scofield, R.H., Dennis, G.J., James, J.A., and Harley, J.B. 2003. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med*. 349:1526-1533.
- Arend, W.P., Michel, B.A., Bloch, D.A., Hunder, G.G., Calabrese, L.H., Edworthy, S.M., Fauci, A.S., Leavitt, R.Y., Lie, J.T., Lightfoot, R.W., Jr., et al. 1990. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Takayasu arteritis. *Arthritis Rheum* 33:1129-1134.
- Arnett, F.C., Edworthy, S.M., Bloch, D.A., McShane, D.J., Fries, J.F., Cooper, N.S., Healey, L.A., Kaplan, S.R., Liang, M.H., Luthra, H.S., et al. 1988. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 31:315-324.
- Arnett, F.C., Hamilton, R.G., Reveille, J.D., Bias, W.B., Harley, J.B., and Reichlin, M. 1989. Genetic studies of Ro (SS-A) and La (SS-B) autoantibodies in families with systemic lupus erythematosus and primary Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum* 32:413-419.

- Arnett, F.C., Hamilton, R.G., Roebber, M.G., Harley, J.B., and Reichlin, M. 1988. Increased frequencies of Sm and nRNP autoantibodies in American blacks compared to whites with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 15:1773-1776.
- Arnett, F.C., Reveille, J.D., and Valdez, B.C. 1997. Autoantibodies to a nucleolar RNA helicase protein in patients with connective tissue diseases. *Arthritis Rheum* 40:1487-1492.
- Atsumi, T., Khamashta, M.A., Amengual, O., Donohoe, S., Mackie, I., Ichikawa, K., Koike, T., and Hughes, G.R. 1998. Binding of anticardiolipin antibodies to protein C via beta2-glycoprotein I (beta2-GPI): a possible mechanism in the inhibitory effect of antiphospholipid antibodies on the protein C system. *Clin Exp Immunol* 112:325-333.
- Auer-Grumbach, P., and Achleitner, B. 1994. Epidemiology and clinical associations of NuMA (nuclear mitotic apparatus protein) autoantibodies. *J Rheumatol* 21:1779-1781.
- Avrameas, S., Dighiero, G., Lymberi, P., and Guilbert, B. 1983. Studies on natural antibodies and autoantibodies. *Ann Immunol (Paris)* 134D:103-113.
- Avrameas, S., and Ternynck, T. 1993. The natural autoantibodies system: between hypotheses and facts. *Mol Immunol* 30:1133-1142.
- Avrameas, S., and Ternynck, T. 1995. Natural autoantibodies: the other side of the immune system. *Res Immunol* 146:235-248.
- Bachmann, M., Mayet, W.J., Schroder, H.C., Pfeifer, K., Meyer zum Buschenfelde, K.H., and Muller, W.E. 1986. Association of La and Ro antigens with intracellular structures in HEP-2 carcinoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:7770-7774.
- Bachmann, M., Pfeifer, K., Schroder, H.C., and Muller, W.E. 1990. Characterization of the autoantigen La as a nucleic acid-dependent ATPase/dATPase with melting properties. *Cell* 60:85-93.
- Barnes, R.M., Allan, S., Taylor-Robinson, C.H., Finn, R., and Johnson, P.M. 1990. Serum antibodies reactive with *Saccharomyces cerevisiae* in inflammatory bowel disease: is IgA antibody a marker for Crohn's disease? *Int Arch Allergy Appl Immunol* 92:9-15.
- Bauer, R., and Schutz, R. 1979. [Nucleophagocytosis in monocytes--an immunocytologic phenomenon of anti-dna-antibodies]. *Hautarzt* 30:134-139.
- Bauer, R., and Schutz, R. 1979. [The LE cell phenomenon. New aspects in molecular biology and immunocytology]. *Arch Dermatol Res* 266:197-204.
- Baum, H., Butler, P., Davies, H., Sternberg, M.J., and Burroughs, A.K. 1993. Autoimmune disease and molecular mimicry: a hypothesis. *Trends Biochem Sci* 18:140-144.
- Beck, J.S. 1961. Variations in the morphological patterns of "autoimmune" nuclear fluorescence. *Lancet* 1:1203-1205.
- Ben-Chetrit, E. 1993. The molecular basis of the SSA/Ro antigens and the clinical significance of their autoantibodies. *Br J Rheumatol* 32:396-402.
- Berglin, E., Johansson, T., Sundin, U., Jidell, E., Wadell, G., Hallmans, G., and Rantapaa-Dahlqvist, S. 2006. Radiological outcome in rheumatoid arthritis is predicted by presence of antibodies against cyclic citrullinated peptide before and at disease onset, and by IgA-RF at disease onset. *Ann Rheum Dis* 65:453-458.
- Bernstein, R.M., Hobbs, R.N., Lea, D.J., Ward, D.J., and Hughes, G.R. 1985. Patterns of antihistone antibody specificity in systemic rheumatic disease. I Systemic lupus erythematosus, mixed connective tissue disease, primary sicca syndrome, and rheumatoid arthritis with vasculitis. *Arthritis Rheum* 28:285-293.
- Bernstein, R.M., Steigerwald, J.C., and Tan, E.M. 1982. Association of antinuclear and antinucleolar antibodies in progressive systemic sclerosis. *Clin Exp Immunol* 48:43-51.
- Bird, H.A., Esselinckx, W., Dixon, A.S., Mowat, A.G., and Wood, P.H. 1979. An evaluation of criteria for polymyalgia rheumatica. *Ann Rheum Dis* 38:434-439.
- Bischoff, F.R., Maier, G., Tilz, G., and Ponstingl, H. 1990. A 47-kDa human nuclear protein recognized by antikinetochore autoimmune sera is homologous with the protein encoded by RCC1, a gene implicated in onset of chromosome condensation. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:8617-8621.
- Bloch, D.A., Michel, B.A., Hunder, G.G., McShane, D.J., Arend, W.P., Calabrese, L.H., Edworthy, S.M., Fauci, A.S., Fries, J.F., Leavitt, R.Y., et al. 1990. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of vasculitis. Patients and methods. *Arthritis Rheum* 33:1068-1073.

- Bohan, A., and Peter, J.B. 1975. Polymyositis and dermatomyositis (second of two parts). *N Engl J Med* 292:403-407.
- Bohan, A., and Peter, J.B. 1975. Polymyositis and dermatomyositis (first of two parts). *N Engl J Med* 292:344-347.
- Bossuyt, X., and Luyckx, A. 2005. Antibodies to extractable nuclear antigens in antinuclear antibody-negative samples. *Clin Chem* 51:2426-2427.
- Bradley, J., and McCluskey, J. 1997. *Clinical Immunology*. New York: Oxford Press.
- Brouwer, R., Vree Egberts, W.T., Hengstman, G.J., Raijmakers, R., van Engelen, B.G., Seelig, H.P., Renz, M., Mierau, R., Genth, E., Pruijn, G.J., et al. 2002. Autoantibodies directed to novel components of the PM/Scl complex, the human exosome. *Arthritis Res* 4:134-138.
- Buyon, J.P. 1992. Neonatal lupus syndromes. *Am J Reprod Immunol* 28:259-263.
- Bylund, D.J., and Nakamura, R.M. 1991. Importance of detection of SS-A/Ro autoantibody in screening immunofluorescence tests for autoantibodies to nuclear antigens. *J Clin Lab Anal* 5:212-218.
- Cabral, A.R., and Alarcon-Segovia, D. 1998. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol* 10:409-416.
- Calabrese, L.H., Michel, B.A., Bloch, D.A., Arend, W.P., Edworthy, S.M., Fauci, A.S., Fries, J.F., Hunder, G.G., Leavitt, R.Y., Lie, J.T., et al. 1990. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of hypersensitivity vasculitis. *Arthritis Rheum* 33:1108-1113.
- Casiano, C.A., Humbel, R.L., Peebles, C., Covini, G., and Tan, E.M. 1995. Autoimmunity to the cell cycle-dependent centromere protein p330d/CENP-F in disorders associated with cell proliferation. *J Autoimmun* 8:575-586.
- Casiano, C.A., and Tan, E.M. 1996. Recent developments in the understanding of antinuclear autoantibodies. *Int Arch Allergy Immunol* 111:308-313.
- Casiano, C.A., and Tan, E.M. 1996. Antinuclear autoantibodies: probes for defining proteolytic events associated with apoptosis. *Mol Biol Rep* 23:211-216.
- Cepellini, R., Polli, E., and Celada, F. 1957. A DNA-reacting factor in serum of a patient with lupus erythematosus diffusus. *Proc Soc Exp Biol Med* 96:572-574.
- Chan, E.K., Imai, H., Hamel, J.C., and Tan, E.M. 1991. Human autoantibody to RNA polymerase I transcription factor hUBF. Molecular identity of nucleolus organizer region autoantigen NOR-90 and ribosomal RNA transcription upstream binding factor. *J Exp Med* 174:1239-1244.
- Chan, E.K., Tan, E.M., Ward, D.C., and Matera, A.G. 1994. Human 60-kDa SS-A/Ro ribonucleoprotein autoantigen gene (SSA2) localized to 1q31 by fluorescence in situ hybridization. *Genomics* 23:298-300.
- Chan, E.K., Damoiseaux, J., Carballo, O.G. et al. 2015. Report of the First International Consensus on Standardized Nomenclature of Antinuclear Antibody HEp-2 Cell Patterns 2014-2015. *Front Immunol* 6:412. doi 10.3389/fimmu.2015.00412.
- Charles, P.J., van Venrooij, W.J., and Maini, R.N. 1992. The Consensus Workshops for the Detection of Autoantibodies to Intracellular Antigens in Rheumatic Diseases: 1989-1992. *Clin Exp Rheumatol* 10:507-511.
- Clark, G., Reichlin, M., and Tomasi, T.B., Jr. 1969. Characterization of a soluble cytoplasmic antigen reactive with sera from patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 102:117-122.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS) 2006. Quality assurance of laboratory tests for autoantibodies to nuclear antigens: (1) Indirect fluorescence assay for microscopy and (2) Microtiter enzyme immunoassay methods. Approved guidelines, 2<sup>nd</sup> ed. CLSI I/LA-2-A2. 26 (13).
- Conrad, K., Chan, E.K.L., Fritzler, M.J., Sack, U., Shoenfeld, Y., and Wiik, A.S. 2007. *From Etiopathogenesis to the prediction of autoimmune disease: relevance of autoantibodies*. Lengerich: Pabst Science Publishers.
- Conrad, K., Humbel, R.L., Meurer, M., Shoenfeld, Y., and Tan, E.M. 2000. *Autoantigens and autoantibodies: diagnostic tools and clues to understanding autoimmunity*. Lengerich: Pabst Science Publishers.
- Conrad, K., and Mehlhorn, J. 2000. Diagnostic and prognostic relevance of autoantibodies in uranium miners. *Int Arch Allergy Immunol* 123:77-91.
- Conrad, K., Roggenbuck, D., Lehmann, W., Schedler, U., and Peine, G. 2011. *Multiparameteranalytik in Forschung und Praxis*. Lengerich: Pabst Science Publishers.



- Conrad, K., Schöbler, W., and Hiepe, F. 2012. *Autoantikörper bei systemischen Autoimmunerkrankungen. Ein diagnostischer Leitfaden*. Lengerich: Pabst Science Publishers.
- Conrad, K., Tan, E.M., Humbel, R.L., and Shoenfeld, Y. 1997. Autoantibodies - diagnostic, pathogenic and prognostic relevance. *Clin Exp Rheumatol* 15:457-465.
- Cook, L. 1998. New methods for detection of anti-nuclear antibodies. *Clin Immunol Immunopathol* 88:211-220.
- Coombs, R.R.A., and Gell, P.G.H. 1963. The classification of allergic reactions underlying disease. In: *Clinical aspects of immunology*. Eds. P.G.H. Gell and R.R.A. Coombs, Philadelphia: Davis.
- Cooper, G.S., and Stroehla, B.C. 2003. The epidemiology of autoimmune diseases. *Autoimmun Rev* 2:119-125.
- Coutinho, A., Kazatchkine, M.D., and Avrameas, S. 1995. Natural autoantibodies. *Curr Opin Immunol* 7:812-818.
- Covini, G., von Muhlen, C.A., Pacchetti, S., Colombo, M., Chan, E.K., and Tan, E.M. 1997. Diversity of antinuclear antibody responses in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 26:1255-1265.
- Craft, J., Mimori, T., Olsen, T.L., and Hardin, J.A. 1988. The U2 small nuclear ribonucleoprotein particle as an autoantigen. Analysis with sera from patients with overlap syndromes. *J Clin Invest* 81:1716-1724.
- Czaja, A.J., Cassani, F., Cataleta, M., Valentini, P., and Bianchi, F.B. 1996. Frequency and significance of antibodies to actin in type 1 autoimmune hepatitis. *Hepatology* 24:1068-1073.
- Dagenais, A., Bibor-Hardy, V., and Senecal, J.L. 1988. A novel autoantibody causing a peripheral fluorescent antinuclear antibody pattern is specific for nuclear pore complexes. *Arthritis Rheum* 31:1322-1327.
- Damoiseaux, J., Boestan, K., Giesen, J., Austen, J., and Tervaert, J.W. 2005. Evaluation of a novel line-blot immunoassay for the detection of antibodies to extractable nuclear antigens. *Ann N Y Acad Sci* 1050:340-347.
- Damoiseaux, J., and Tervaert, J.W.C. 2006. From ANA to ENA: how to proceed? *Autoimmun Rev* 5:10-17.
- Damoiseaux, J., Agmon-Levin, N., van Blerk, M. et al. 2014. From ANA-Screening to antigen-specificity: an EASI-survey on the daily practice in European countries. *Clin Exp Rheumatol* 32:539-546.
- Dang, C.V., Tan, E.M., and Traugh, J.A. 1988. Myositis autoantibody reactivity and catalytic function of threonyl-tRNA synthetase. *Faseb J* 2:2376-2379.
- de Vlam, K., De Keyser, F., Verbruggen, G., Vandebossche, M., Vanneuville, B., D'Haese, D., and Veys, E.M. 1993. Detection and identification of antinuclear autoantibodies in the serum of normal blood donors. *Clin Exp Rheumatol* 11:393-397.
- Dighiero, G., Guilbert, B., and Avrameas, S. 1982. Naturally occurring antibodies against nine common antigens in humans sera. II. High incidence of monoclonal Ig exhibiting antibody activity against actin and tubulin and sharing antibody specificities with natural antibodies. *J Immunol* 128:2788-2792.
- Dighiero, G., Lymberi, P., Guilbert, B., Ternynck, T., and Avrameas, S. 1986. Natural autoantibodies constitute a substantial part of normal circulating immunoglobulins. *Ann N Y Acad Sci* 475:135-145.
- Dorner, T., Feist, E., Pruss, A., Chaoui, R., Goldner, B., and Hiepe, F. 2000. Significance of autoantibodies in neonatal lupus erythematosus. *Int Arch Allergy Immunol* 123:58-66.
- Douvas, A.S., Achten, M., and Tan, E.M. 1979. Identification of a nuclear protein (Scl-70) as a unique target of human antinuclear antibodies in scleroderma. *J Biol Chem* 254:10514-10522.
- Earnshaw, W.C., and Rattner, J.B. 1991. The use of autoantibodies in the study of nuclear and chromosomal organization. *Methods Cell Biol* 35:135-175.
- Earnshaw, W.C., Sullivan, K.F., Machlin, P.S., Cooke, C.A., Kaiser, D.A., Pollard, T.D., Rothfield, N.F., and Cleveland, D.W. 1987. Molecular cloning of cDNA for CENP-B, the major human centromere autoantigen. *J Cell Biol* 104:817-829.
- Egner, W. 2000. The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE. *J Clin Pathol* 53:424-432.
- Emlen, W., and O'Neill, L. 1997. Clinical significance of antinuclear antibodies: comparison of detection with immunofluorescence and enzyme-linked immunosorbent assays. *Arthritis Rheum* 40:1612-1618.
- Erlanson, M., Casiano, C.A., Tan, E.M., Lindh, J., Roos, G., and Landberg, G. 1999. Immunohistochemical analysis of the proliferation associated nuclear antigen CENP-F in non-Hodgkin's lymphoma. *Mod Pathol* 12:69-74.

- Exner, T., Triplett, D.A., Taberner, D., and Machin, S.J. 1991. Guidelines for testing and revised criteria for lupus anticoagulants. SSC Subcommittee for the Standardization of Lupus Anticoagulants. *Thromb Haemost* 65:320-322.
- Fehervari, Z., and Sakaguchi, S. 2004. CD4+ Tregs and immune control. *J Clin Invest* 114:1209-1217.
- Fehervari, Z., and Sakaguchi, S. 2004. Development and function of CD25+CD4+ regulatory T cells. *Curr Opin Immunol* 16:203-208.
- Feist, E., Dorner, T., Kuckelkorn, U., Scheffler, S., Burmester, G., and Kloetzel, P. 2000. Diagnostic importance of anti-proteasome antibodies. *Int Arch Allergy Immunol* 123:92-97.
- Feltkamp, T.E., Klein, F., and Janssens, M.B. 1988. Standardisation of the quantitative determination of antinuclear antibodies (ANAs) with a homogeneous pattern. *Ann Rheum Dis* 47:906-909.
- Forman, M.S., Nakamura, M., Mimori, T., Gelpi, C., and Hardin, J.A. 1985. Detection of antibodies to small nuclear ribonucleoproteins and small cytoplasmic ribonucleoproteins using unlabeled cell extracts. *Arthritis Rheum* 28:1356-1361.
- Forslid, J., Heigl, Z., Jonsson, J., and Scheynius, A. 1994. The prevalence of antinuclear antibodies in healthy young persons and adults, comparing rat liver tissue sections with HEp-2 cells as antigen substrate. *Clin Exp Rheumatol* 12:137-141.
- Francoeur, A.M., Peebles, C.L., Heckman, K.J., Lee, J.C., and Tan, E.M. 1985. Identification of ribosomal protein autoantigens. *J Immunol* 135:2378-2384.
- Frank, M.B., McCubbin, V., Trieu, E., Wu, Y., Isenberg, D.A., and Targoff, I.N. 1999. The association of anti-Ro52 autoantibodies with myositis and scleroderma autoantibodies. *J Autoimmun* 12:137-142.
- French, P.W., Penny, R., and Yang, J.L. 1994. A confocal microscopy study of anticytoskeletal antibody activity in patients with connective tissue disease. *Clin Diagn Lab Immunol* 1:71-77.
- Friou, G.J. 1957. Clinical application of lupus serum - Nucleoprotein reaction using the fluorescent antibody technique. *J Clin Invest* 36:890 (Abstract).
- Friou, G.J. 1958. Identification of the nuclear component of the interaction of lupus erythematosus globulin and nuclei. *J Immunol* 80:476-481.
- Fritzler, M.J. 1985. Antinuclear antibodies in the investigation of rheumatic diseases. *Bull Rheum Dis* 35:1-10.
- Fritzler, M.J., Ayer, L.M., Gohill, J., O'Connor, C., Laxer, R.M., and Humbel, R.L. 1987. An antigen in metaphase chromatin and the midbody of mammalian cells binds to scleroderma sera. *J Rheumatol* 14:291-294.
- Fritzler, M.J., and Fritzler, M.L. 2006. The emergence of multiplexed technologies as diagnostic platforms in systemic autoimmune diseases. *Curr Med Chem* 13:2503-2512.
- Fritzler, M.J., Pauls, J.D., Kinsella, T.D., and Bowen, T.J. 1985. Antinuclear, anticytoplasmic, and anti-Sjogren's syndrome antigen A (SS-A/Ro) antibodies in female blood donors. *Clin Immunol Immunopathol* 36:120-128.
- Fritzler, M.J., Wiik, A., Tan, E.M., Smolen, J.S., McDougal, J.S., Chan, E.K., Gordon, T.P., Hardin, J.A., Kalden, J.R., Lahita, R.G., et al. 2003. A critical evaluation of enzyme immunoassay kits for detection of antinuclear autoantibodies of defined specificities. III. Comparative performance characteristics of academic and manufacturers' laboratories. *J Rheumatol* 30:2374-2381.
- Fujimoto, M., Kikuchi, K., Tamaki, T., Yazawa, N., Kubo, M., Ihn, H., Sato, S., Soma, Y., and Tamaki, K. 1997. Distribution of anti-p80-coilin autoantibody in collagen diseases and various skin diseases. *Br J Dermatol* 137:916-920.
- Gal, I., Lakos, G., and Zeher, M. 2000. Comparison of the anti-Ro/SSA autoantibody profile between patients with primary and secondary Sjogren's syndrome. *Autoimmunity* 32:89-92.
- Galeazzi, M., Gasbarrini, G., Ghirardello, A., Grandemange, S., Hoffman, H.M., Manna, R., Podswiadek, M., Punzi, L., Sebastiani, G.D., Touito, I., and Doria, A. 2006. Autoinflammatory syndromes. *Clin Exp Rheumatol* 24:S79-85.
- Garberg, H., Jonsson, R., and Brokstad, K.A. 2005. The serological pattern of autoantibodies to the Ro52, Ro60, and La48 autoantigens in primary Sjogren's syndrome patients and healthy controls. *Scand J Rheumatol* 34:49-55.

- Geng, X., Biancone, L., Dai, H.H., Lin, J.J., Yoshizaki, N., Dasgupta, A., Pallone, F., and Das, K.M. 1998. Tropomyosin isoforms in intestinal mucosa: production of autoantibodies to tropomyosin isoforms in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 114:912-922.
- Girard, D., and Senecal, J.L. 1995. Anti-microfilament IgG antibodies in normal adults and in patients with autoimmune diseases: immunofluorescence and immunoblotting analysis of 201 subjects reveals polyreactivity with microfilament-associated proteins. *Clin Immunol Immunopathol* 74:193-201.
- Gniewek, R.A., Stites, D.P., McHugh, T.M., Hilton, J.F., and Nakagawa, M. 1997. Comparison of antinuclear antibody testing methods: immunofluorescence assay versus enzyme immunoassay. *Clin Diagn Lab Immunol* 4:185-188.
- Goldstein, R., Duvic, M., Targoff, I.N., Reichlin, M., McMenemy, A.M., Reveille, J.D., Warner, N.B., Pollack, M.S., and Arnett, F.C. 1990. HLA-D region genes associated with autoantibody responses to histidyl-transfer RNA synthetase (Jo-1) and other translation-related factors in myositis. *Arthritis Rheum* 33:1240-1248.
- Gonzalez, C., Guevara, P., Alarcon, I., Hernando, M., Navajo, J.A., and Gonzalez-Buitrago, J.M. 2002. Antinuclear antibodies (ANA) screening by enzyme immunoassay with nuclear HEp-2 cell extract and recombinant antigens: analytical and clinical evaluation. *Clin Biochem* 35:463-469.
- Gonzalez, R., Charlemagne, J., Mahana, W., and Avrameas, S. 1988. Specificity of natural serum antibodies present in phylogenetically distinct fish species. *Immunology* 63:31-36.
- Grabar, P. 1975. Hypothesis. Auto-antibodies and immunological theories: an analytical review. *Clin Immunol Immunopathol* 4:453-466.
- Gromnica-Ihle, E., and Schossler, W. 2000. Antiphospholipid syndrome. *Int Arch Allergy Immunol* 123:67-76.
- Guilbert, B., Dighiero, G., and Avrameas, S. 1982. Naturally occurring antibodies against nine common antigens in human sera. I. Detection, isolation and characterization. *J Immunol* 128:2779-2787.
- Guldner, H.H. 1992. Mapping of epitopes recognized by anti-(U1) RNP autoantibodies. *Mol Biol Rep* 16:155-164.
- Gussin, H.A., Ignat, G.P., Varga, J., and Teodorescu, M. 2001. Anti-topoisomerase I (anti-Scl-70) antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 44:376-383.
- Hansen, B.U., Eriksson, S., and Lindgren, S. 1991. High prevalence of autoimmune liver disease in patients with multiple nuclear dot, anti-centromere, and mitotic spindle antibodies. *Scand J Gastroenterol* 26:707-713.
- Hardin, J.A. 1986. The lupus autoantigens and the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 29:457-460.
- Hardin, J.A., and Mimori, T. 1985. Autoantibodies to ribonucleoproteins. *Clin Rheum Dis* 11:485-505.
- Hargraves, M.M., Richmond, H., and Morton, R. 1948. Presentation of two bone marrow elements, "tart" cell and "LE" cell. *Proc Mayo Clin* 23:25-28.
- Harley, J.B. 1989. Autoantibodies in Sjogren's syndrome. *J Autoimmun* 2:383-394.
- Harris, E.N. 1990. Special report. The Second International Anti-cardiolipin Standardization Workshop/the Kingston Anti-Phospholipid Antibody Study (KAPS) group. *Am J Clin Pathol* 94:476-484.
- Harris, E.N., Chan, J.K., Asherson, R.A., Aber, V.R., Gharavi, A.E., and Hughes, G.R. 1986. Thrombosis, recurrent fetal loss, and thrombocytopenia. Predictive value of the anticardiolipin antibody test. *Arch Intern Med* 146:2153-2156.
- Harris, E.N., Gharavi, A.E., Asherson, R.A., and Hughes, G.R. 1984. Antiphospholipid antibodies: a review. *Eur J Rheumatol Inflamm* 7:5-8.
- Harris, E.N., Gharavi, A.E., and Hughes, G.R. 1985. Anti-phospholipid antibodies. *Clin Rheum Dis* 11:591-609.
- Harris, E.N., Gharavi, A.E., Loizou, S., Derue, G., Chan, J.K., Patel, B.M., Mackworth-Young, C.G., Bunn, C.C., and Hughes, G.R. 1985. Crossreactivity of antiphospholipid antibodies. *J Clin Lab Immunol* 16:1-6.
- Harris, E.N., Hughes, G.R., and Gharavi, A.E. 1986. Anti-cardiolipin antibodies and the lupus anticoagulant. *Clin Exp Rheumatol* 4:187-190.
- Harris, E.N., Loizou, S., Englert, H., Derue, G., Chan, J.K., Gharavi, A.E., and Hughes, G.R. 1984. Anticardiolipin antibodies and lupus anticoagulant. *Lancet* 2:1099.
- Harris, E.N., Pierangeli, S.S., and Gharavi, A.E. 1998. Diagnosis of the antiphospholipid syndrome: a proposal for use of laboratory tests. *Lupus* 7 Suppl 2:S144-148.

- Hartung, K., Ehrfeld, H., Lakomek, H.J., Coldewey, R., Lang, B., Krapf, F., Muller, R., Schendel, D., Deicher, H., and Seelig, H.P. 1992. The genetic basis of Ro and La antibody formation in systemic lupus erythematosus. Results of a multicenter study. The SLE Study Group. *Rheumatol Int* 11:243-249.
- Hassfeld, W., Chan, E.K., Mathison, D.A., Portman, D., Dreyfuss, G., Steiner, G., and Tan, E.M. 1998. Molecular definition of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein R (hnRNP R) using autoimmune antibody: immunological relationship with hnRNP P. *Nucleic Acids Res* 26:439-445.
- Hemmerich, P., and von Mikecz, A. 2000. Antinuclear autoantibodies: fluorescent highlights on structure and function in the nucleus. *Int Arch Allergy Immunol* 123:16-27.
- Hernando, M., Gonzalez, C., Sanchez, A., Guevara, P., Navajo, J.A., Papisch, W., and Gonzalez-Buitrago, J.M. 2002. Clinical evaluation of a new automated anti-dsDNA fluorescent immunoassay. *Clin Chem Lab Med* 40:1056-1060.
- Herrmann, M., Winkler, T., Gaipf, U., Lorenz, H., Geiler, T., and Kalden, J.R. 2000. Etiopathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Int Arch Allergy Immunol* 123:28-35.
- Hochberg, M.C. 1997. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 40:1725.
- Holborow, E.J., Weir, D.M., and Johnson, G.D. 1957. A serum factor in lupus erythematosus with affinity for tissue nuclei. *Br Med J* 13:732-734.
- Holman, H.R., Deicher, H.R., and Kunkel, H.G. 1959. The L. E. cell and the L. E. serum factors. *Bull N Y Acad Med* 35:409-418.
- Holman, H.R., and Kunkel, H.G. 1957. Affinity between the lupus erythematosus serum factor and cell nuclei and nucleoprotein. *Science* 126:162.
- Horsfall, A.C. 1992. Molecular mimicry and autoantigens in connective tissue diseases. *Mol Biol Rep* 16:139-147.
- Hughes, G.R. 1983. Thrombosis, abortion, cerebral disease, and the lupus anticoagulant. *Br Med J (Clin Res Ed)* 287:1088-1089.
- Hughes, G.R. 1984. Autoantibodies in lupus and its variants: experience in 1000 patients. *Br Med J (Clin Res Ed)* 289:339-342.
- Hughes, G.R. 1985. The anticardiolipin syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 3:285-286.
- Hughes, G.R., Harris, E.N., and Gharavi, A.E. 1984. The syndrome of thrombosis, abortion, and neurological disease. *Contrib Nephrol* 43:9-11.
- Hughes, G.R., Harris, N.N., and Gharavi, A.E. 1986. The anticardiolipin syndrome. *J Rheumatol* 13:486-489.
- Hunder, G. 1990. Immunogenetics and polymyalgia rheumatica. *Br J Rheumatol* 29:321-322.
- Hunder, G.G. 1990. Giant cell (temporal) arteritis. *Rheum Dis Clin North Am* 16:399-409.
- Hunder, G.G., Arend, W.P., Bloch, D.A., Calabrese, L.H., Fauci, A.S., Fries, J.F., Leavitt, R.Y., Lie, J.T., Lightfoot, R.W., Jr., Masi, A.T., et al. 1990. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of vasculitis. Introduction. *Arthritis Rheum* 33:1065-1067.
- Hunder, G.G., Bloch, D.A., Michel, B.A., Stevens, M.B., Arend, W.P., Calabrese, L.H., Edworthy, S.M., Fauci, A.S., Leavitt, R.Y., Lie, J.T., et al. 1990. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of giant cell arteritis. *Arthritis Rheum* 33:1122-1128.
- Imai, H., Fritzler, M.J., Neri, R., Bombardieri, S., Tan, E.M., and Chan, E.K. 1994. Immunocytochemical characterization of human NOR-90 (upstream binding factor) and associated antigens reactive with autoimmune sera. Two MR forms of NOR-90/hUBF autoantigens. *Mol Biol Rep* 19:115-124.
- Imai, H., Kiyosawa, K., Chan, E.K., and Tan, E.M. 1993. Autoantibodies in viral hepatitis-related hepatocellular carcinoma. *Intervirol* 35:73-85.
- Isshi, K., and Hirohata, S. 1996. Association of anti-ribosomal P protein antibodies with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 39:1483-1490.
- Janeway, C.A., Travers, P., Walport, M., and Shlomchik, M.J. 2001. *Immunobiology. The immune system in health and disease*. New York: Garland Science.
- Jasani, B., Ternynck, T., Lazarus, J.H., Phillips, D.I., Avrameas, S., and Parkes, A.B. 1999. Natural antibody status in patients with Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Lab Immunol* 51:9-20.

- Jennette, J.C., Falk, R.J., Andrassy, K., Bacon, P.A., Churg, J., Gross, W.L., Hagen, E.C., Hoffman, G.S., Hunder, G.G., and Kallenberg, C.G. 1994. Nomenclature of systemic vasculitides. Proposal of an international consensus conference. *Arthritis Rheum* 37:187-192.
- Johnson, G.D., Holborow, E.J., and Glynn, L.E. 1965. Antibody to smooth muscle in patients with liver disease. *Lancet* 2:878-879.
- Jones, D.E. 2000. Autoantigens in primary biliary cirrhosis. *J Clin Pathol* 53:813-821.
- Jury, E.C., D'Cruz, D., and Morrow, W.J.W. 2001. Autoantibodies and overlap syndromes in autoimmune rheumatic disease. *J Clin Pathol* 54, 340-347.
- Kallemuchikkal, U., and Gorevic, P.D. 1999. Evaluation of cryoglobulins. *Arch Pathol Lab Med* 123:119-125.
- Kallenberg, C.G., Wouda, A.A., Hoet, M.H., and van Venrooij, W.J. 1988. Development of connective tissue disease in patients presenting with Raynaud's phenomenon: a six year follow up with emphasis on the predictive value of antinuclear antibodies as detected by immunoblotting. *Ann Rheum Dis* 47:634-641.
- Kasukawa, R., Tojo, T., and Miyawaki, S. 1987. Preliminary diagnostic criteria for classification of mixed connective tissue disease. In *Mixed connective tissue disease and anti-nuclear antibodies*. R. Kasukawa, and G.C. Sharp, editors. Amsterdam: Elsevier. 41-47.
- Kavanaugh, A., Tomar, R., Reveille, J., Solomon, D.H., and Homburger, H.A. 2000. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. American College of Pathologists. *Arch Pathol Lab Med* 124:71-78.
- Klemperer, P., Pollach, A.D., and Baehr, G. 1941. Pathology of disseminated Lupus erythematosus. *Arch Path* 32:569-631.
- Klemperer, P., Pollack, A.D., and Baehr, G. 1942. Diffuse collagen disease. Acute disseminated lupus erythematosus and diffuse scleroderma. *JAMA* 119:331-332.
- Koike, T., Ichikawa, K., Kasahara, H., Atsumi, T., Tsutsumi, A., and Matsuura, E. 1998. Epitopes on beta2-GPI recognized by anticardiolipin antibodies. *Lupus* 7 Suppl 2:S14-17.
- Konstantinov, K., Foisner, R., Byrd, D., Liu, F.T., Tsai, W.M., Wiik, A., and Gerace, L. 1995. Integral membrane proteins associated with the nuclear lamina are novel autoimmune antigens of the nuclear envelope. *Clin Immunol Immunopathol* 74:89-99.
- Korbet, S.M., Lewis, E.J., Schwartz, M.M., Reichlin, M., Evans, J., and Rohde, R.D. 2000. Factors predictive of outcome in severe lupus nephritis. Lupus Nephritis Collaborative Study Group. *Am J Kidney Dis* 35:904-914.
- Kremer, L., Alvaro-Gracia, J.M., Ossorio, C., and Avila, J. 1988. Proteins responsible for anticentromere activity found in the sera of patients with CREST-associated Raynaud's phenomenon. *Clin Exp Immunol* 72:465-469.
- Kronenberg, M. 1991. Self-tolerance and autoimmunity. *Cell* 65:537-542.
- Kurien, B.T., Hensley, K., Bachmann, M., and Scofield, R.H. 2006. Oxidatively modified autoantigens in autoimmune diseases. *Free Radic Biol Med* 41:549-556.
- Kumar, Y., Bhatia, A., and Minz, R.W. 2009. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagnostic Pathology* doi:10.1186/1746-1596-4-1
- Kurien, B.T., and Scofield, R.H. 2006. Autoantibody determination in the diagnosis of systemic lupus erythematosus. *Scand J Immunol* 64:227-235.
- Kurien, B.T., and Scofield, R.H. 2006. Lipid peroxidation in systemic lupus erythematosus. *Indian J Exp Biol* 44:349-356.
- Kuwana, M., Okano, Y., Kaburaki, J., Medsger, T.A., Jr., and Wright, T.M. 1999. Autoantibodies to RNA polymerases recognize multiple subunits and demonstrate cross-reactivity with RNA polymerase complexes. *Arthritis Rheum* 42:275-284.
- Lamprecht, P., Gause, A., and Gross, W.L. 1999. Cryoglobulinemic vasculitis. *Arthritis Rheum* 42:2507-2516.
- Landberg, G., Erlanson, M., Roos, G., Tan, E.M., and Casiano, C.A. 1996. Nuclear autoantigen p330d/CENP-F: a marker for cell proliferation in human malignancies. *Cytometry* 25:90-98.
- Leavitt, R.Y., Fauci, A.S., Bloch, D.A., Michel, B.A., Hunder, G.G., Arend, W.P., Calabrese, L.H., Fries, J.F., Lie, J.T., Lightfoot, R.W., Jr., et al. 1990. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Wegener's granulomatosis. *Arthritis Rheum* 33:1101-1107.

- Lehmeier, T., Raker, V., Hermann, H., and Luhrmann, R. 1994. cDNA cloning of the Sm proteins D2 and D3 from human small nuclear ribonucleoproteins: evidence for a direct D1-D2 interaction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91:12317-12321.
- Lerner, M.R., and Steitz, J.A. 1979. Antibodies to small nuclear RNAs complexed with proteins are produced by patients with systemic lupus erythematosus. *Proc Natl Acad Sci USA* 76:5495-5499.
- Lightfoot, R.W., Jr., Michel, B.A., Bloch, D.A., Hunder, G.G., Zvaifler, N.J., McShane, D.J., Arend, W.P., Calabrese, L.H., Leavitt, R.Y., Lie, J.T., et al. 1990. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of polyarteritis nodosa. *Arthritis Rheum* 33:1088-1093.
- Lima, F., Khamashta, M.A., Buchanan, N.M., Kerslake, S., Hunt, B.J., and Hughes, G.R. 1996. A study of sixty pregnancies in patients with the antiphospholipid syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 14:131-136.
- Liu, L.F., and Miller, K.G. 1981. Eukaryotic DNA topoisomerases: two forms of type I DNA topoisomerases from HeLa cell nuclei. *Proc Natl Acad Sci U S A* 78:3487-3491.
- Loizou, S., McCrea, J.D., Rudge, A.C., Reynolds, R., Boyle, C.C., and Harris, E.N. 1985. Measurement of anti-cardiolipin antibodies by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): standardization and quantitation of results. *Clin Exp Immunol* 62:738-745.
- Lorber, M., Gershwin, M.E., and Shoenfeld, Y. 1994. The coexistence of systemic lupus erythematosus with other autoimmune diseases: the kaleidoscope of autoimmunity. *Semin Arthritis Rheum* 24:105-113.
- Louzir, H., Ternynck, T., Gorgi, Y., Tahar, S., Ayed, K., and Avrameas, S. 1992. Autoantibodies and circulating immune complexes in sera from patients with hepatitis B virus-related chronic liver disease. *Clin Immunol Immunopathol* 62:160-167.
- Luqmani, R.A., Suppiah, R., Grayson, P.C., Merkel, P.A., and Warts, R. 2011. Nomenclature and classification of vasculitis - update on the ACR/EULAR diagnosis and classification of vasculitis study (DCVAS). *Clin Exp Immunol* 164, 11-13.
- Lynch, A., Silver, R., and Emlen, W. 1997. Antiphospholipid antibodies in healthy pregnant women. *Rheum Dis Clin North Am* 23:55-70.
- Mack, G.J., Rees, J., Sandblom, O., Balczon, R., Fritzler, M.J., and Rattner, J.B. 1998. Autoantibodies to a group of centrosomal proteins in human autoimmune sera reactive with the centrosome. *Arthritis Rheum* 41:551-558.
- Maerker-Alzer, G. 1990. [Autoimmune reactions in rheumatic diseases]. *Internist (Berl)* 31:19-25.
- Mahler, M., Hanly, J.G., and Fritzler, M. 2012. Importance of the dense fine speckled pattern on HEp-2 cells and anti-DFS70 antibodies for the diagnosis of systemic autoimmune diseases. *Autoimmun Rev* 11:642-645.
- Mannik, M., and Wener, M.H. 1997. Deposition of antibodies to the collagen-like region of C1q in renal glomeruli of patients with proliferative lupus glomerulonephritis. *Arthritis Rheum* 40:1504-1511.
- Masi, A.T., Hunder, G.G., Lie, J.T., Michel, B.A., Bloch, D.A., Arend, W.P., Calabrese, L.H., Edworthy, S.M., Fauci, A.S., Leavitt, R.Y., et al. 1990. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Churg-Strauss syndrome (allergic granulomatosis and angiitis). *Arthritis Rheum* 33:1094-1100.
- Masi, A.T., Rodnan, G.P., Medsger, T.A., Jr., Altman, R.D., D'Angelo, W.A., Fries, J.F., LeRoy, E.C., Kirsner, A.B., MacKenzie, A.H., McShane, D.J., et al. 1980. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum* 23:581-590.
- Mathews, M.B., and Bernstein, R.M. 1983. Myositis autoantibody inhibits histidyl-tRNA synthetase: a model for autoimmunity. *Nature* 304:177-179.
- Matsiota, P., Druet, P., Dosquet, P., Guilbert, B., and Avrameas, S. 1987. Natural autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol* 69:79-88.
- Matsuura, E., Igarashi, Y., Fujimoto, M., Ichikawa, K., and Koike, T. 1990. Anticardiolipin cofactor(s) and differential diagnosis of autoimmune disease. *Lancet* 336:177-178.
- Maul, G.G., French, B.T., van Venrooij, W.J., and Jimenez, S.A. 1986. Topoisomerase I identified by scleroderma 70 antisera: enrichment of topoisomerase I at the centromere in mouse mitotic cells before anaphase. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:5145-5149.
- Mavragani, C.P., Tzioufas, A.G., and Moutsopoulos, H.M. 2000. Sjogren's syndrome: autoantibodies to cellular antigens. Clinical and molecular aspects. *Int Arch Allergy Immunol* 123:46-57.

- McNeil, H.P., Simpson, R.J., Chesterman, C.N., and Krilis, S.A. 1990. Anti-phospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation: beta 2-glycoprotein I (apolipoprotein H). *Proc Natl Acad Sci USA* 87:4120-4124.
- Meroni, P.L., and Schur, P.H. ANA screening: an old test with new recommendations. *Ann Rheum Dis* 69:1420-1422.
- Meyerson, J., Lechuga-Gomez, E.E., Bigazzi, P.E., and Walfish, P.G. 1988. Polyglandular autoimmune syndrome: current concepts. *Cmaj* 138:605-612.
- Mierau, R., and Genth, E. 2002. [New aspects in autoantibody diagnosis in collagen diseases]. *Z Rheumatol* 61:355-366.
- Miescher, P., and Strassle, R. 1957. New serological methods for the detection of the L.E. factor. *Vox Sang* 2:283-287.
- Miller, F.W., Waite, K.A., Biswas, T., and Plotz, P.H. 1990. The role of an autoantigen, histidyl-tRNA synthetase, in the induction and maintenance of autoimmunity. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:9933-9937.
- Mills, J.A., Michel, B.A., Bloch, D.A., Calabrese, L.H., Hunder, G.G., Arend, W.P., Edworthy, S.M., Fauci, A.S., Leavitt, R.Y., Lie, J.T., et al. 1990. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Henoch-Schonlein purpura. *Arthritis Rheum* 33:1114-1121.
- Mirilas, P., Fesel, C., Guilbert, B., Beratis, N.G., and Avrameas, S. 1999. Natural antibodies in childhood: development, individual stability, and injury effect indicate a contribution to immune memory. *J Clin Immunol* 19:109-115.
- Mishina, D., Katsel, P., Brown, S.T., Gilberts, E.C., and Greenstein, R.J. 1996. On the etiology of Crohn disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:9816-9820.
- Miyachi, K., Fritzler, M.J., and Tan, E.M. 1978. Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells. *J Immunol* 121:2228-2234.
- Miyakis, S., Lockshin, M.D., Atsumi, T., Branch, D.W., Brey, R.L., Cervera, R., Derksen, R.H., PG, D.E.G., Koike, T., Meroni, P.L., et al. 2006. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 4:295-306.
- Molden, D.P., Nakamura, R.M., and Tan, E.M. 1984. Standardization of the immunofluorescence test for autoantibody to nuclear antigens (ANA): use of reference sera of defined antibody specificity. *Am J Clin Pathol* 82:57-66.
- Monier, J.C. 1990. Antinuclear antibodies: detection and diagnostic value. *Int J Rad Appl Instrum B* 17:713-718.
- Moroi, Y., Peebles, C., Fritzler, M.J., Steigerwald, J., and Tan, E.M. 1980. Autoantibody to centromere (kinetochore) in scleroderma sera. *Proc Natl Acad Sci USA* 77:1627-1631.
- Morrow, J., Nelson, J.L., Watts, R., and Isenberg D. 1999. *Autoimmune rheumatic disease*. Oxford: Oxford University Press.
- Muratori, P., Muratori, L., Ferrari, R., Cassani, F., Bianchi, G., Lenzi, M., Rodrigo, L., Linares, A., Fuentes, D., and Bianchi, F.B. 2003. Characterization and clinical impact of antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 98:431-437.
- Nakamura, R.M., and Tan, E.M. 1992. Update on autoantibodies to intracellular antigens in systemic rheumatic diseases. *Clin Lab Med* 12:1-23.
- Nesher, G., Margalit, R., and Ashkenazi, Y.J. 2001. Anti-nuclear envelope antibodies: Clinical associations. *Semin Arthritis Rheum* 30:313-320.
- Neuberger, J., and Bradwell, A.R. 2002. Anti-mitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 37:712-716.
- Nishikai, M., and Reichlin, M. 1980. Heterogeneity of precipitating antibodies in polymyositis and dermatomyositis. Characterization of the Jo-1 antibody system. *Arthritis Rheum* 23:881-888.
- Nishikawa, H., Kato, T., Tawara, I., Saito, K., Ikeda, H., Kuribayashi, K., Allen, P.M., Schreiber, R.D., Sakaguchi, S., Old, L.J., et al. 2005. Definition of target antigens for naturally occurring CD4(+) CD25(+) regulatory T cells. *J Exp Med* 201:681-686.
- Nossent, H., and Rekvig, O.P. 2001. Antinuclear antibody screening in this new millennium: farewell to the microscope? *Scand J Rheumatol* 30:123-126; discussion 127-128.

- Ochs, R.L., Lischwe, M.A., Spohn, W.H., and Busch, H. 1985. Fibrillarin: a new protein of the nucleolus identified by autoimmune sera. *Biol Cell* 54:123-133.
- Ochs, R.L., Muro, Y., Si, Y., Ge, H., Chan, E.K., and Tan, E.M. 2000. Autoantibodies to DFS 70 kd/transcription coactivator p75 in atopic dermatitis and other conditions. *J Allergy Clin Immunol* 105:1211-1220.
- Ochs, R.L., and Press, R.I. 1992. Centromere autoantigens are associated with the nucleolus. *Exp Cell Res* 200:339-350.
- Ochs, R.L., Stein, T.W., Peebles, C.L., Gittes, R.F., and Tan E.M. 1994. Autoantibodies in interstitial cystitis. *J Urol* 151:587-592.
- Odendahl, M., Jacobi, A., Hansen, A., Feist, E., Hiepe, F., Burmester, G.R., Lipsky, P.E., Radbruch, A., and Dorner, T. 2000. Disturbed peripheral B lymphocyte homeostasis in systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 165:5970-5979.
- Okada, N., Mimori, T., Mukai, R., Kashiwagi, H., and Hardin, J.A. 1987. Characterization of human autoantibodies that selectively precipitate the 7SL RNA component of the signal recognition particle. *J Immunol* 138:3219-3223.
- Ordi-Ros, J. 1996. Thrombotic manifestations in the antiphospholipid syndrome. In *The antiphospholipid syndrome*. R.A. Asherson, R. Cervera, J.C. Piette, and Y. Shoenfeld, editors. Boca Raton: CRC Press. 107-115.
- Peter H.H, Pichler, W.J., and Müller-Ladner, U. 2012. *Klinische Immunologie*. München: Urban & Schwarzenberg.
- Pettersson, I., Wang, G., Smith, E.I., Wigzell, H., Hedfors, E., Horn, J., and Sharp, G.C. 1986. The use of immunoblotting and immunoprecipitation of (U) small nuclear ribonucleoproteins in the analysis of sera of patients with mixed connective tissue disease and systemic lupus erythematosus. A cross-sectional, longitudinal study. *Arthritis Rheum* 29:986-996.
- Pfeifle, J., Anderer, F.A., and Franke, M. 1986. Characterisation of nucleolar proteins as autoantigens using human autoimmune sera. *Ann Rheum Dis* 45:978-986.
- Piette, J.C. 1996. 1996 diagnostic and classification criteria for the antiphospholipid/cofactors syndrome: a "mission impossible"? *Lupus* 5:354-363.
- Piette, J.C., Wechsler, B., Frances, C., Papo, T., and Godeau, P. 1993. Exclusion criteria for primary antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol* 20:1802-1804.
- Pincus, T., Schur, P.H., Rose, J.A., Decker, J.L., and Talal, N. 1969. Measurement of serum DNA-binding activity in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 281:701-705.
- Plotz, C.M., and Singer, J.M. 1956. The latex fixation test. I. Application to the serologic diagnosis of rheumatoid arthritis. *Am J Med* 21:888-892.
- Price, C.M., McCarty, G.A., and Pettijohn, D.E. 1984. NuMA protein is a human autoantigen. *Arthritis Rheum* 27:774-779.
- Prüß, H. 2013. Neuroimmunologie:Neues zur limbischen Enzephalitis. *Akt Neurol* 40:127-136.
- Quinton, J.F., Sendid, B., Reumaux, D., Duthilleul, P., Cortot, A., Grandbastien, B., Charrier, G., Targan, S.R., Colombel, J.F., and Poulain, D. 1998. Anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *Gut* 42:788-791.
- Raska, I., Andrade, L.E., Ochs, R.L., Chan, E.K., Chang, C.M., Roos, G., and Tan, E.M. 1991. Immunological and ultrastructural studies of the nuclear coiled body with autoimmune antibodies. *Exp Cell Res* 195:27-37.
- Rattner, J.B. 1991. The structure of the mammalian centromere. *Bioessays* 13:51-56.
- Rattner, J.B., Mack, G.J., and Fritzler, M.J. 1998. Autoantibodies to components of the mitotic apparatus. *Mol Biol Rep* 25:143-155.
- Rattner, J.B., Martin, L., Waisman, D.M., Johnstone, S.A., and Fritzler, M.J. 1991. Autoantibodies to the centrosome (centriole) react with determinants present in the glycolytic enzyme enolase. *J Immunol* 146:2341-2344.
- Rattner, J.B., Rees, J., Whitehead, C.M., Casiano, C.A., Tan, E.M., Humbel, R.L., Conrad, K., and Fritzler, M.J. 1997. High frequency of neoplasia in patients with autoantibodies to centromere protein CENP-F. *Clin Invest Med* 20:308-319.



- Reeves, W.H., Nigam, S.K., and Blobel, G. 1986. Human autoantibodies reactive with the signal-recognition particle. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:9507-9511.
- Reichlin, M. 2000. ANA negative systemic lupus erythematosus sera revisited serologically. *Lupus* 9:116-119.
- Reichlin, M., Maddison, P.J., Targoff, I., Bunch, T., Arnett, F., Sharp, G., Treadwell, E., and Tan, E.M. 1984. Antibodies to a nuclear/nucleolar antigen in patients with polymyositis overlap syndromes. *J Clin Immunol* 4:40-44.
- Reichlin, M., and Reichlin, M.W. 1989. Autoantibodies to the Ro/SS-A particle react preferentially with the human antigen. *J Autoimmun* 2:359-365.
- Reimer, G. 1990. Autoantibodies against nuclear, nucleolar, and mitochondrial antigens in systemic sclerosis (scleroderma). *Rheum Dis Clin North Am* 16:169-183.
- Reimer, G., Rose, K.M., Scheer, U., and Tan, E.M. 1987. Autoantibody to RNA polymerase I in scleroderma sera. *J Clin Invest* 79:65-72.
- Richmond, T.J., and Davey, C.A. 2003. The structure of DNA in the nucleosome core. *Nature* 423:145-150.
- Riemekasten, G., and Hahn, B.H. 2005. Key autoantigens in SLE. *Rheumatology* 44:975-982.
- Rodriguez-Sanchez, J.L., Gelpi, C., Juarez, C., and Hardin, J.A. 1987. Anti-NOR 90. A new autoantibody in scleroderma that recognizes a 90-kDa component of the nucleolus-organizing region of chromatin. *J Immunol* 139:2579-2584.
- Rose N.R., and Mackay, I.R. 2006. *The autoimmune disease*. Amsterdam: Elsevier Academic Press.
- Rubin, R.L., Bell, S.A., and Burlingame, R.W. 1992. Autoantibodies associated with lupus induced by diverse drugs target a similar epitope in the (H2A-H2B)-DNA complex. *J Clin Invest* 90:165-173.
- Ruffatti, A., Rossi, L., Calligaro, A., Del Ross, T., Lagni, M., Marson, P., and Todesco, S. 1990. Autoantibodies of systemic rheumatic diseases in the healthy elderly. *Gerontology* 36:104-111.
- Rutjes, S.A., Vree Egberts, W.T., Jongen, P., Van Den Hoogen, F., Pruijn, G.J., and Van Venrooij, W.J. 1997. Anti-Ro52 antibodies frequently co-occur with anti-Jo-1 antibodies in sera from patients with idiopathic inflammatory myopathy. *Clin Exp Immunol* 109:32-40.
- Sack, U., Conrad, K., Csernok, E., Frank, I., Hiepe, F., Krieger, T., Kromminga, A., von Landenberg, P., Messer, G., Witte, T., Mierau, R., and German EASI (European Autoimmunity Standardization Initiative). 2009. Autoantibody detection using indirect immunofluorescence on HEp-2 cells. *Ann NY Acad Sci* 1173:166-173.
- Sakaguchi, S. 2004. Naturally arising CD4+ regulatory t cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Annu Rev Immunol* 22:531-562.
- Salafia, C.M., and Parke, A.L. 1997. Placental pathology in systemic lupus erythematosus and phospholipid antibody syndrome. *Rheum Dis Clin North Am* 23:85-97.
- Salden, M.H., Van Eekelen, C.A., Habets, W.J., Vierwinden, G., Van de Putte, L.B., and Van Venrooy, W.J. 1982. Anti-nuclear matrix antibodies in mixed connective tissue disease. *Eur J Immunol* 12:783-786.
- Salomonsson, S., Dorner, T., Theander, E., Bremme, K., Larsson, P., and Wahren-Herlenius, M. 2002. A serologic marker for fetal risk of congenital heart block. *Arthritis Rheum* 46:1233-1241.
- Schwartz, B.D. 1990. Infectious agents, immunity, and rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* 33:457-465.
- Schwartz, R.S., and Datta, S.K. 1989. Autoimmunity and autoimmune disease. In *Fundamental Immunology*. W.E. Paul, editor. New York: Raven Press.
- Seelig, H.P., Moosbrugger, I., Ehrfeld, H., Fink, T., Renz, M., and Genth, E. 1995. The major dermatomyositis-specific Mi-2 autoantigen is a presumed helicase involved in transcriptional activation. *Arthritis Rheum* 38:1389-1399.
- Sendid, B., Quinton, J.F., Charrier, G., Goulet, O., Cortot, A., Grandbastien, B., Poulain, D., and Colombel, J.F. 1998. Anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies in familial Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 93:1306-1310.
- Sequi, J., Leigh, I., and Isenberg, D.A. 1991. Relation between antinuclear antibodies and the autoimmune rheumatic diseases and disease type and activity in systemic lupus erythematosus using a variety of cultured cell lines. *Ann Rheum Dis* 50:167-172.

- Setoguchi, R., Hori, S., Takahashi, T., and Sakaguchi, S. 2005. Homeostatic maintenance of natural Foxp3(+) CD25(+) CD4(+) regulatory T cells by interleukin (IL)-2 and induction of autoimmune disease by IL-2 neutralization. *J Exp Med* 201:723-735.
- Sharp, G.C. 1987. Diagnostic criteria for classification of MCTD. In *Mixed connective tissue disease and anti-nuclear antibodies*. R. Kasukawa, and G.C. Sharp, editors. Amsterdam: Elsevier. 33-40.
- Sharp, G.C., Irvin, W.S., LaRoque, R.L., Velez, C., Daly, V., Kaiser, A.D., and Holman, H.R. 1971. Association of autoantibodies to different nuclear antigens with clinical patterns of rheumatic disease and responsiveness to therapy. *J Clin Invest* 50:350-359.
- Sharp, G.C., Irvin, W.S., May, C.M., Holman, H.R., McDuffie, F.C., Hess, E.V., and Schmid, F.R. 1976. Association of antibodies to ribonucleoprotein and Sm antigens with mixed connective-tissue disease, systemic lupus erythematosus and other rheumatic diseases. *N Engl J Med* 295:1149-1154.
- Sharp, G.C., Irvin, W.S., Tan, E.M., Gould, R.G., and Holman, H.R. 1972. Mixed connective tissue disease: an apparently distinct rheumatic disease syndrome associated with a specific antibody to an extractable nuclear antigen (ENA). *Am J Med* 52:148-159.
- Sherer, Y., Gorstein, A., Fritzler M.J., and Shoenfeld, Y. 2004. Autoantibody explosion in systemic lupus erythematosus: more than 100 different antibodies found in SLE patients. *Semin Arthritis Rheum* 34:501-537.
- Sherer, Y., and Shoenfeld, Y. 2000. The idiotypic network in antinuclear-antibody-associated diseases. *Int Arch Allergy Immunol* 123:10-15.
- Shero, J.H., Bordwell, B., Rothfield, N.F., and Earnshaw, W.C. 1986. High titers of autoantibodies to topoisomerase I (Scl-70) in sera from scleroderma patients. *Science* 231:737-740.
- Shi, M.H., Tsui, F.W., and Rubin, L.A. 1991. Cellular localization of the target structures recognized by the anti-Jo-1 antibody: immunofluorescence studies on cultured human myoblasts. *J Rheumatol* 18:252-258.
- Shoenfeld, Y. 1999. *The decade of autoimmunity*. Amsterdam: Elsevier Science.
- Shoenfeld, Y., Cervera, R., Haass, M., Kallenberg, C., Khamashta, M., Meroni, P., Piette, J.C., Schmidt, R., and Wiik, A. 2007. EASI - The European Autoimmunity Standardisation Initiative: a new initiative that can contribute to agreed diagnostic models of diagnosing autoimmune disorders throughout Europe. *Ann N Y Acad Sci* 1109:138-144.
- Shoenfeld, Y., and Isenberg, D.A. 1989. The mosaic of autoimmunity. *Immunol Today* 10:123-126.
- Singh, D.P., Ohguro, N., Kikuchi, T., Sueno, T., Reddy, V.N., Yuge, K., Chylack, L.T., and Shinohara, T. 2000. Lens epithelium-derived growth factor: effects on growth and survival of lens epithelial cells, keratinocytes, and fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 267:373-381.
- Smolen, J.S., Butcher, B., Fritzler, M.J., Gordon, T., Hardin, J., Kalden, J.R., Lahita, R., Maini, R.N., Reeves, W., Reichlin, M., et al. 1997. Reference sera for antinuclear antibodies. II. Further definition of antibody specificities in international antinuclear antibody reference sera by immunofluorescence and western blotting. *Arthritis Rheum* 40:413-418.
- Smolen, J.S., Steiner, G., and Tan, E.M. 1997. Standards of care: the value and importance of standardization. *Arthritis Rheum* 40:410-412.
- Solomon, D.H., Kavanaugh, A.J., Schur, P.H., and the American College of Rheumatology Ad Hoc Committee on Immunologic Testing Guidelines. 2002. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: antinuclear antibody testing. *Arthritis Rheum* 47, 434-444.
- Stanek, D., Vencovsky, J., Kafkova, J., and Raska, I. 1997. Heterogenous nuclear RNP C1 and C2 core proteins are targets for an autoantibody found in the serum of a patient with systemic sclerosis and psoriatic arthritis. *Arthritis Rheum* 40:2172-2177.
- Sternsdorf, T., Guldner, H.H., Szosteki, C., Grotzinger, T., and Will, H. 1995. Two nuclear dot-associated proteins, PML and Sp100, are often co-autoimmunogenic in patients with primary biliary cirrhosis. *Scand J Immunol* 42:257-268.
- Sullivan, K.F., and Glass, C.A. 1991. CENP-B is a highly conserved mammalian centromere protein with homology to the helix-loop-helix family of proteins. *Chromosoma* 100:360-370.
- Swaak, T., and Smeenk, R. 1985. Detection of anti-dsDNA as a diagnostic tool: a prospective study in 441 non-systemic lupus erythematosus patients with anti-dsDNA antibody (anti-dsDNA). *Ann Rheum Dis* 44:245-251.

- Swadzba, J., Iwaniec, T., Szczeklik, A., and Musial, J. 2007. Revised classification criteria for antiphospholipid syndrome and the thrombotic risk in patients with autoimmune diseases. *J Thromb Haemost* 5, 1883-1889.
- Szostecki, C., Krippner, H., Penner, E., and Bautz, F.A. 1987. Autoimmune sera recognize a 100 kD nuclear protein antigen (sp-100). *Clin Exp Immunol* 68:108-116.
- Szostecki, C., Will, H., Netter, H.J., and Guldner, H.H. 1992. Autoantibodies to the nuclear Sp100 protein in primary biliary cirrhosis and associated diseases: epitope specificity and immunoglobulin class distribution. *Scand J Immunol* 36:555-564.
- Tan, E.M. 1982. Autoantibodies to nuclear antigens (ANA): their immunobiology and medicine. *Adv Immunol* 33:167-240.
- Tan, E.M. 1982. Special antibodies for the study of systemic lupus erythematosus: an analysis. *Arthritis Rheum* 25:753-756.
- Tan, E.M. 1989. Antinuclear antibodies: diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology. *Adv Immunol* 44:93-151.
- Tan, E.M. 1993. Molecular biology of nuclear autoantigens. *Adv Nephrol Necker Hosp* 22:213-236.
- Tan, E.M. 1996. Autoantibodies--what do they recognize? *Verh Dtsch Ges Pathol* 80:1-11.
- Tan, E.M. 1997. Autoantibodies and autoimmunity: a three-decade perspective. A tribute to Henry G. Kunkel. *Ann N Y Acad Sci* 815:1-14.
- Tan, E.M. 1998. The L.E. cell and its legacy. 1948. *Clin Exp Rheumatol* 16:652-658.
- Tan, E.M. 2001. Autoantibodies as reporters identifying aberrant cellular mechanisms in tumorigenesis. *J Clin Invest* 108:1411-1415.
- Tan, E.M., Cohen, A.S., Fries, J.F., Masi, A.T., McShane, D.J., Rothfield, N.F., Schaller, J.G., Talal, N., and Winchester, R.J. 1982. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 25:1271-1277.
- Tan, E.M., Feltkamp, T.E., Smolen, J.S., Butcher, B., Dawkins, R., Fritzler, M.J., Gordon, T., Hardin, J.A., Kalden, J.R., Lahita, R.G., et al. 1997. Range of antinuclear antibodies in "healthy" individuals. *Arthritis Rheum* 40:1601-1611.
- Tan, E.M., Fritzler, M.J., McDougal, J.S., McDuffie, F.C., Nakamura, R.M., Reichlin, M., Reimer, C.B., Sharp, G.C., Schur, P.H., Wilson, M.R., et al. 1982. Reference sera for antinuclear antibodies. I. Antibodies to native DNA, Sm, nuclear RNP, and SS-B/La. *Arthritis Rheum* 25:1003-1005.
- Tan, E.M., and Kunkel, H.G. 1966. Characteristics of a soluble nuclear antigen precipitating with sera of patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 96:464-471.
- Tan, E.M., Muro, Y., and Pollard, K.M. 1994. Autoantibody-defined epitopes on nuclear antigens are conserved, conformation-dependent and active site regions. *Clin Exp Rheumatol* 12 Suppl 11:S27-31.
- Tan, E.M., Schur, P.H., Carr, R.I., and Kunkel, H.G. 1966. Deoxybonucleic acid (DNA) and antibodies to DNA in the serum of patients with systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 45:1732-1740.
- Tan, E.M., Smolen, J.S., McDougal, J.S., Butcher, B.T., Conn, D., Dawkins, R., Fritzler, M.J., Gordon, T., Hardin, J.A., Kalden, J.R., et al. 1999. A critical evaluation of enzyme immunoassays for detection of antinuclear autoantibodies of defined specificities. I. Precision, sensitivity, and specificity. *Arthritis Rheum* 42:455-464.
- Tan, E.M., Smolen, J.S., McDougal, J.S., Fritzler, M.J., Gordon, T., Hardin, J.A., Kalden, J.R., Lahita, R.G., Maini, R.N., Reeves, W.H., et al. 2002. A critical evaluation of enzyme immunoassay kits for detection of antinuclear autoantibodies of defined specificities. II. Potential for quantitation of antibody content. *J Rheumatol* 29:68-74.
- Targoff, I.N., Johnson, A.E., and Miller, F.W. 1990. Antibody to signal recognition particle in polymyositis. *Arthritis Rheum* 33:1361-1370.
- Theissen, H., Etzerodt, M., Reuter, R., Schneider, C., Lottspeich, F., Argos, P., Luhrmann, R., and Philipson, L. 1986. Cloning of the human cDNA for the U1 RNA-associated 70K protein. *Embo J* 5:3209-3217.
- Theofilopoulos, A.N. 1995. The basis of autoimmunity: Part II. Genetic predisposition. *Immunol Today* 16:150-159.
- Theofilopoulos, A.N. 1995. The basis of autoimmunity: Part I. Mechanisms of aberrant self-recognition. *Immunol Today* 16:90-98.

- Tomer, Y., Buskila, D., and Shoenfeld, Y. 1993. Pathogenic significance and diagnostic value of lupus autoantibodies. *Int Arch Allergy Immunol* 100:293-306.
- Tozzoli, R., Bizzaro, N., Tonutti, E., Villalta, D., Bassetti, D., Manoni, F., Piazza, A., Pradella, M., and Rizzotti, P. 2002. Guidelines for the laboratory use of autoantibodies tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. *Am J Clin Pathol* 117, 316-324.
- Triplet, D.A. 1994. Assays for detection of antiphospholipid antibodies. *Lupus* 3:281-287.
- van Eenennaam, H., Vogelzang, J.H., Bisschops, L., Te Boome, L.C., Seelig, H.P., Renz, M., De Rooij, D.J., Brouwer, R., Pluk, H., Pruijn, G.J., et al. 2002. Autoantibodies against small nucleolar ribonucleoprotein complexes and their clinical associations. *Clin Exp Immunol* 130:532-540.
- van Venrooij, W.J., Charles, P., and Maini, R.N. 1991. The consensus workshops for the detection of autoantibodies to intracellular antigens in rheumatic diseases. *J Immunol Methods* 140:181-189.
- van Venrooij, W.J., and Maini, R.N., editors. 1994. *Manual of biological markers of disease*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- Venables, P.J. 1997. Antibodies to Jo-1 and Ro-52: why do they go together? *Clin Exp Immunol* 109:403-405.
- Vergani, D., Alvarez, F., Bianchi, F.B., Cancado, E.L., Mackay, I.R., Manns, M.P., Nishioka, M., and Penner, E. 2004. Liver autoimmune serology: a consensus statement from the committee for autoimmune serology of the International Autoimmune Hepatitis Group. *J Hepatol* 41, 677-683.
- Vitali, C., and Bombardieri, S. 1996. Sjogren's syndrome, mixed cryoglobulinaemia and the monoclonal gammopathies. *Clin Exp Rheumatol* 14 Suppl 14:S59-63.
- Vitali, C., Bombardieri, S., Moutsopoulos, H.M., Balestrieri, G., Bencivelli, W., Bernstein, R.M., Bjerrum, K.B., Braga, S., Coll, J., de Vita, S., et al. 1993. Preliminary criteria for the classification of Sjogren's syndrome. Results of a prospective concerted action supported by the European Community. *Arthritis Rheum* 36:340-347.
- Vitali, C., Bombardieri, S., Moutsopoulos, H.M., Coll, J., Gerli, R., Hatron, P.Y., Kater, L., Kontinen, Y.T., Manthorpe, R., Meyer, O., et al. 1996. Assessment of the European classification criteria for Sjogren's syndrome in a series of clinically defined cases: results of a prospective multicentre study. The European Study Group on Diagnostic Criteria for Sjogren's Syndrome. *Ann Rheum Dis* 55:116-121.
- von Muhlen, C.A., and Tan, E.M. 1995. Autoantibodies in the diagnosis of systemic rheumatic diseases. *Semin Arthritis Rheum* 24:323-358.
- Walker, J.G., Doniach, D., Roitt, I.M., and Sherlock, S. 1965. Serological tests in diagnosis of primary biliary cirrhosis. *Lancet* 39:827-831.
- Welsch, S., and Branch, D.W. 1997. Antiphospholipid syndrome in pregnancy. Obstetric concerns and treatment. *Rheum Dis Clin North Am* 23:71-84.
- Werle, E., Blazek, M., and Fiehn, W. 1992. The clinical significance of measuring different anti-dsDNA antibodies by using the Farr assay, an enzyme immunoassay and a Crithidia luciliae immunofluorescence test. *Lupus* 1:369-377.
- Whitehead, C.M., Fritzler, M.J., and Rattner, J.B. 1998. The relationship of ASE-1 and NOR-90 in autoimmune sera. *J Rheumatol* 25:2126-2130.
- Whitehead, C.M., and Rattner, J.B. 1998. Expanding the role of HsEg5 within the mitotic and post-mitotic phases of the cell cycle. *J Cell Sci* 111 (Pt 17):2551-2561.
- Wigand, R., Gottschalk, R., Falkenbach, A., Matthias, T., Kaltwasser, J.P., and Hoelzer, D. 1997. [Detection of dsDNA antibodies in diagnosis of systemic lupus erythematosus--comparative studies of diagnostic effectiveness of 3 ELISA methods with different antigens and a Crithidia luciliae immunofluorescence test]. *Z Rheumatol* 56:53-62.
- Wiik, A., Cervera, R., Haass, M., Kallenberg, C., Khamashta, M., Meroni, P.L., Piette, J.C., Schmitt, R., and Shoenfeld, Y. 2006. European attempts to set guidelines for improving diagnostics of autoimmune rheumatic disorders. *Lupus* 15:391-396.
- Wiik, A.S., Gordon, T.P., Kavanaugh, A.F., Lahita, R.G., Reeves, W., van Venrooij, W.J., Wilson, M.R., Fritzler, M., and The IUIS/WHO/CDC Committee for the Standardization of Autoantibodies in Rheumatic and Related Diseases. 2004. Cutting edge diagnostics in rheumatology: the role of patients, clinicians, and laboratory scientists in optimizing the use of autoimmune serology. *Arthritis Rheum* 51:291-298.

- Wilson, W.A., Gharavi, A.E., Koike, T., Lockshin, M.D., Branch, D.W., Piette, J.C., Brey, R., Derksen, R., Harris, E.N., Hughes, G.R., et al. 1999. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. *Arthritis Rheum* 42:1309-1311.
- Wilson, W.A., Gharavi, A.E., and Piette, J.C. 2001. International classification criteria for antiphospholipid syndrome: synopsis of a post-conference workshop held at the Ninth International (Tours) aPL Symposium. *Lupus* 10:457-460.
- Witte, T., Hartung, K., Matthias, T., Sachse, C., Fricke, M., Deicher, H., Kalden, J.R., Lakomek, H.J., Peter, H.H., and Schmidt, R.E. 1998. Association of IgA anti-dsDNA antibodies with vasculitis and disease activity in systemic lupus erythematosus. SLE Study Group. *Rheumatol Int* 18:63-69.
- Yasuma, M., Takasaki, Y., Matsumoto, K., Kodama, A., Hashimoto, H., and Hirose, S. 1990. Clinical significance of IgG anti-Sm antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 17:469-475.
- Yeaman, S.J., Fussey, S.P., Danner, D.J., James, O.F., Mutimer, D.J., and Bassendine, M.F. 1988. Primary biliary cirrhosis: identification of two major M2 mitochondrial autoantigens. *Lancet* 1:1067-1070.
- Yeatman, N., Sachs, J., and Bottazzo, G.F. 1992. Autoimmunity--towards the year 2001. *Immunol Today* 13:239-240.
- Zandman-Goddard, G., Gilburd, B., Shovman, O., Blank, M., Berdichevski, S., Langevitz, P., and Shoenfeld, Y. 2005. The homogeneous multiplexed system - a new method for autoantibody profile in systemic lupus erythematosus. *Clin Dev Immunol* 12:107-111.