

만성 염증성 장질환 환자에서 항호중구 세포질 항체의 의의

연세대학교 의과대학 내과학교실, 임상병리학교실*

문운재 · 배희동 · 박효진 · 김원호 · 정석훈* · 김현숙* · 전재운 · 박인서

서 론

항호중구 세포질 항체(anti-neutrophil cytoplasmic antibody; ANCA)는 정상 현혈자의 백혈구에 대한 항핵항체 간접 면역형광법중 발견된 호중구의 일차성 과립내의 당단백질(glycoprotein)에 대한 자가항체로서¹⁾ 괴사성 사구체신염 등의 혈관염과의 관련성이 제시된 이후²⁾, 전신성 혈관염(systemic vasculitis) 및 특발성 반월형 사구체신염(idiopathic crescentic glomerulonephritis)에 민감하고 특이한 표지자로 광범위하게 쓰여 왔다. ANCA는 간접 면역형광법으로 관찰하면 염색양상에 따라 cytoplasmic-ANCA(c-ANCA)와 perinuclear-ANCA(p-ANCA)의 두 가지 양상으로 나타나는데 c-ANCA는 세포질의 proteinase 3에 대한 항체이며 베게너 육아종증과 연관성이 있고, p-ANCA는 대부분의 경우가 myeloperoxidase에 대한 항체로서 특발성 반월형 사구체신염과 괴사성 전신성 혈관염(necrotizing systemic vasculitis)과 연관이 있는 것으로 알려져 있다³⁾.

최근 궤양성 대장염 환자의 혈청에서 IgG-ANCA가 검출된 후⁴⁾ 만성 염증성 장질환에서 ANCA 발현에 대한 많은 연구가 시행되었는데, 대부분의 궤양성 대장염에서 주로 p-ANCA형의 ANCA가 발현되고 궤양성 대장염을 제외한 만성 염증성 장질환에서는 그 발현빈도가 적다고 보고되었다^{5, 6)}. 또한 최근에 궤양성 대장염에 있어서 ANCA의 발현에 유전적 요인이 작용하며 이에 따라 민족간에 ANCA의 발현율이 상이함이 보고된 바 있다⁷⁾.

이에 본 연구에서는 연세의료원에 내원한 만성 염

증성 장질환 환자의 혈청을 이용하여 간접 면역형광법으로 ANCA의 발현율을 알아보고 궤양성 대장염 환자에서 ANCA와 임상 양상과의 관련성 및 표지자로서 유용성을 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

1994년 3월 1일부터 1995년 9월 30일까지 19개월간 연세의료원 내과에 내원하여 임상증상, 대장내시경 검사 및 조직검사와 방사선학적 검사로 확인된 궤양성 대장염 환자 34명과 기타 만성 염증성 장질환 환자 19명 및 무증상의 건강한 의과대학 4학년 학생의 혈청을 대상으로 하였다.

2. 방법

1) 간접 면역형광법

1988년 Copenhagen에서 열린 “제 1차 ANCA에 관한 국제학회”에서 채택되었던 Wiik 등¹⁾의 방법을 기초로 하였고, 호중구의 순도를 높이기 위해 Dextran 침강 및 lymphoprep분리법⁸⁾을 이용하였으며 그 외의 과정은 Lock⁹⁾의 방법을 이용하였다.

(1) 건강한 사람에서 뽑은 혈액 4ml를 1.0ml의 5% dextran과 섞은 후 실온에서 60분간 침강시켰다. 호중구가 풍부한 상층액을 그 절반 용량의 Lymphoprep(Ficoll-sodium metrizoate, density 1.077 g/ml)에 넣은 후 15분간 160g로 원심분리하였다. 침사에 5ml의 찬 isotonic ammonium chloride를 가하여 10분간 적혈구를 용해시키고 160g로 5분간 원심분리하여 얻은 침사를 5ml의 Hanks' balanced salt solution(HBSS)으로 세척하기를 2회 반복하였다. 준비된 호중구는 Coulter Counter(Coulter, STKS)로

접 수 : 1996년 4월 3일
통 과 : 1996년 5월 28일

측정하여 $0.1 \times 10^9/l$ 가 되게 맞추었다.

(2) 세포부유액 300 μ l를 1,500rpm으로 3분간 세포원심분리(cyocentrifugation)하여 슬라이드에 도말하고 건조시킨 후 4°C의 ethyl alcohol, 4% formalin에 각각 15분, 50초간 고정시켰다.

(3) 환자 및 대조혈청을 phosphate-buffered saline(PBS)으로 1:10 희석하여 100 μ l씩을 슬라이드에 가하고 실온에서 암상자에 20분 동안 가습한 상태로 둔 후 PBS로 슬라이드를 2회 세척하고 여기에 100 μ l의 FITC-conjugated rabbit anti-human IgG (MBL, Nagoya, Japan)를 떨어뜨려 다시 실온에 20분 동안 가습한 상태로 암상자에 둔 후 PBS로 2회 세척하고 면역형광현미경(Microstar IV, Reichert)으로 관찰하였다.

(4) 면역형광현미경상 염색양상은 ethyl alcohol과 formalin에 고정시킨 슬라이드 모두에서 미세과립상의 형광이 세포질에 나타나면 c-ANCA, ethyl alcohol에 고정시킨 슬라이드에서는 핵주위에 강한 형광을 보이나 formalin 고정후 세포질에 형광이 나타나면 p-ANCA로 판정하였고, ethyl alcohol에 고정한 슬라이드에서 세포질이나 핵주위에 형광이 없으면 음성으로 판정하였다.

2) 분석의 틀

1단계로 만성 염증성 장질환 환자에서 궤양성 대장염 환자군과 궤양성 대장염을 제외한 질환 대조군에서 ANCA 발현율을 비교하여 ANCA가 만성 염증성 장질환에서 궤양성 대장염의 진단적 표지자가 될 수 있는지를 검토하였고, 2단계로 궤양성 대장염 환자군에서 ANCA의 발현에 환자의 연령, 성별, 병력기간, 질환의 활동도, 병변부위, 부신피질 호르몬 치료가 영향을 줄 수 있는가를 분석하였다.

3) 변수의 정의

1단계에서는 궤양성 대장염군과 질환 대조군을 종속변수로, ANCA의 발현빈도를 독립변수로 정하였고 2단계에서는 ANCA의 발현을 종속변수로, 연령, 성별, 병력기간, 질환의 활동도, 병변부위, 부신피질 호르몬 치료여부를 독립변수로 설정하였다.

질환의 활동도는 임상 양상 중 체온, 맥박, 배변빈도, 혈색소 및 적혈구침강속도에 따라 경도군, 중등도군, 중증군으로 정하였고¹⁰⁾, 병변부위는 대장내시경 검사와 방사선학적 검사를 시행하여 병변이 직장에 국한

되어 있는 경우, 병변이 횡행결장까지 침범한 경우, 병변이 전체 대장을 침범한 경우를 각각 직장부위군, 좌측대장부위군, 전대장부위군으로 정했으며, ANCA검사의 채혈시기를 기준으로 부신피질 호르몬 치료군, 부신피질 호르몬 비치료군으로 나누었고 그 시점에서 병력기간을 정하였다.

4) 통계처리

1단계에서는 전체환자의 성별, 연령에 대한 단일변량분석을 시행하였고, ANCA발현에 대한 질환군 비교는 χ^2 검정을 시행하였으며, 2단계에서는 궤양성 대장염 환자의 모든 독립변수에 대해 단일변량분석을, 이들 중 성별, 질환의 활동도, 병변부위 및 부신피질 호르몬 치료여부에 따른 ANCA 발현율은 χ^2 검정을, 연령과 병력기간에 따른 ANCA 발현율은 t 검정을 시행하여 관련성을 검토하였다.

결 과

1. 만성 염증성 장질환에서 궤양성 대장염의 표지자로서의 ANCA

대상환자의 평균 연령은 38.6 ± 14.1 세(16-70)였고, 남녀비는 1:1.04였다. 만성 염증성 장질환 환자중 궤양성 대장염 환자군은 34명으로 이들중 ANCA는 23명(67.6%)에서 양성이고, 질환 대조군은 크론병 환자 4명, 베체트 증후군 환자 6명, 결핵성 대장염 환자 7명 방사선성 대장염 환자 2명 등 총 19명으로 이들중 2명(10.5%)에서 ANCA가 양성으로 나와 궤양성 대장염 환자군에서 ANCA 발현율이 통계적으로 유의하게($p=0.00006$) 높았다(Table 1). ANCA의 발현형태를 c-ANCA 및 p-ANCA로 나누어 보았을때 궤양성 대장염 환자중에서는 c-ANCA가 2명(5.9%), p-ANCA가 21명(61.8%)에서 양성이고, 질환 대조군에서는 베체트 증후군 환자와 결핵성 대장염 환자 각각 1명(16.7% 및 14.3%)에서 p-ANCA가 양성이었다. 무증상의 건강 대조군 전 예에서 ANCA는 음성이었다(Table 2).

2. 궤양성 대장염에서 ANCA의 발현에 영향을 미치는 인자

궤양성 대장염 환자에서 ANCA 양성인 환자군의 평균 병력기간은 42.4 ± 39.4 개월이었고, 음성인 환자

Table 1. Comparison of the Presence of ANCA between Patients with Ulcerative Colitis and Patients with Other Inflammatory Bowel Disease

ANCA	No. of patients with disease control(%) [ⓐ]	No. of patients with ulcerative colitis(%)
Negative	17(89.5)	11(32.4)
Positive	2(10.5)	23(67.6)*
Total	19(100.0)	34(100.0)

* : P=0.00006

ⓐ : Disease control represents the patients with other chronic inflammatory bowel disease

Table 2. Prevalence and Binding Pattern of ANCA

Group	No. of patients	No. of patients with ANCA(%)	IF Pattern	
			p-ANCA(%)	c-ANCA(%)
Ulcerative colitis	34	23(67.6)	21(61.8)	
Crohn's disease	4	0		
Behcet's colitis	6	1(16.7)	1(16.7)	2(5.9)
Intestinal tuberculosis	7	1(14.3)	1(14.3)	
Radiation colitis	2	0		
Asymptomatic healthy control	10	0		

Table 3. Clinical Features of Patients with Ulcervative Colitis According to the Presence or the Absence of ANCA

Variables	ANCA negative patients (n=11)	ANCA positive patients (n=23)	p value
Age(years)*	40.7±16.1	37.4±15.2	0.53
Sex**			
Male	8(72.7)	10(43.5)	
Female	3(27.3)	13(56.5)	0.11
Duration(months)*	44.9±36.8	42.3±39.4	0.93
Severity**			
Mild	8(72.7)	15(65.2)	
Moderate	1(9.1)	5(21.7)	
Severe	2(18.2)	3(13.0)	0.65
Extent**			
Proctitis	5(45.5)	4(17.4)	
Left side colitis	4(36.4)	10(43.5)	
Pancolitis	2(18.2)	9(39.1)	0.19
Steroid treatment**			
Yes	4(36.4)	9(39.1)	
No	7(63.6)	14(60.9)	0.88

* : Mean±SD, ** : No(%)

의 평균 병력기간은 44.9±36.8개월로 두군간에 병력기간의 통계학적인 차이는 없었다. 궤양성 대장염 환자를 임상양상에 따른 질환의 활동도로 구분하여본 바, 경도군이 23명, 중등도군이 6명, 중증군이 5명이었

으며 이들에게서 ANCA는 각각 15명(65.2%), 5명(83.3%), 3명(60%)에서 양성으로 나와 질환의 활동도에 따른 ANCA 발현율의 차이는 없었다. 대장내시경 및 방사선화 검사로 궤양성 대장염 환자의 병변부

위를 직장부위군과 좌측대장부위군 및 전대장부위군으로 분류하면 각각 9명, 14명, 11명이었고 이들중 ANCA는 각각 4명(44.4%), 10명(71.4%), 9명(81.8%)에서 양성으로 나와 병변부위에 따른 ANCA 발현율의 차이는 없었다. 궤양성 대장염 환자에서 부신피질 호르몬 치료를 받은 13명중 ANCA는 9명(69.2%)에서 양성이었으며, 부신피질 호르몬 치료를 받지 않은 21명중 16명(76.2%)에서 ANCA 양성으로 이들 사이에 통계학적인 차이는 없었다(Table 3).

고 안

ANCA는 정상 현혈자의 백혈구에 대한 항핵항체 간접 면역형광법 중 발견된 자가항체로서 Davies 등²⁾이 1982년 전신성 혈관염 및 국소성 괴사성 사구체신염이 있는 8명의 환자에서 처음 보고한 후 베게너 육아종증에서 ANCA 양성율과 질환의 활동도가 연관이 깊다는 것이 알려졌고¹¹⁾ 병리학적 역할이 부분적으로 규명되었다. 그 후 베게너 육아종증과 다발성 동맥염 환자에서 간접 면역형광법으로 ANCA를 측정하는 것이 질환의 진단에 있어 중요한 검사방법이 되었고¹²⁾, 특발성 괴사성 및 반월형 사구체신염 환자와 낭창성 신염(lupus nephritis) 환자에서도 ANCA가 발현된 것이 보고되었다³⁾.

ANCA는 염색반응에 따라 c-ANCA와 p-ANCA의 두 종류로 분류되며 c-ANCA는 베게너 육아종증에, p-ANCA는 다발성 동맥염에 각각 특이성이 있는 것으로 알려져 있다³⁾.

ELISA에 의하여 ANCA는 호중구의 원발성 과립 물질 성분에 특이성이 있으며 myeloperoxidase^{13, 14)}와 proteinase 3^{15, 16)}에 반응하는 두 종류의 항체가 있음이 확인되었다. 호중구 세포내의 myeloperoxidase와 반응하는 자가항체는 간접 면역형광법상 ethyl alcohol로 고정된 호중구에서 핵주변부위에 염색(perinuclear staining)이 되고, proteinase 3와 반응하는 자가항체는 미만성 세포질염색(diffuse cytoplasmic staining)이 된다고 보고되었다.

궤양성 대장염에 있어서 항대장상피세포 항체¹⁷⁻²⁰⁾나 림프구 독성(lymphocytotoxic) 항체 등²¹⁾ 여러가지 항체가 보고되어 병인론으로서 면역매개 질환으로 추정되고 있으나 발현빈도가 낮고 특이성이 없기 때문

에 표지자로서의 의의가 인정되지 않았다.

1990년 Saxon 등⁴⁾은 궤양성 대장염 환자 다수와 일부 크론병 환자의 혈청에서 ANCA의 발현을 보고 하였는데 베게너 육아종증에서 발견되는 c-ANCA와는 달리 염증성 대장질환에서는 주로 p-ANCA 형태로 발현된다고 하였다. 궤양성 대장염에서 p-ANCA의 표적항원은 혈관염에서의 myeloperoxidase같이 한가지 항원만이 아닌 여러종류의 이질적인(heterogenous) 항원이라 하며²²⁻²⁴⁾ 아직까지 충분히 규명되지 않고 있다. 이후 만성 염증성 장질환에 대한 연구 결과 궤양성 대장염에서 다른 만성 염증성 대장질환에서 보다 p-ANCA가 많이 발현되고 특이도가 높다고 보고되면서^{5, 6, 22, 24)} 궤양성 대장염에서 p-ANCA의 자가면역성 병인론적인 역할이 예견되었으나, 혈관염에서처럼 반응 산소계(reactive oxygen species)방출을 통한 호중구의 활성화와는 무관한 것으로 보고되었으며^{14, 25)}, 질환의 여러가지 활동도와 ANCA의 발현율도 상관관계가 없는 것으로 나타났다^{24, 26)}.

본 연구에서 34명의 궤양성 대장염 환자중 23명(67.6%)에서 ANCA가 양성으로 나타나 질환 대조군 즉 궤양성 대장염을 제외한 만성 염증성 장질환의 ANCA 양성률보다 통계학적으로 유의하게 높았다. 궤양성 대장염 환자에서의 ANCA 양성률 67.6%는 서구인^{5, 6, 22, 24, 27, 28)}과 중국인²⁹⁾에서 보고된 양성률과 유사하므로, 민족이 다른 여러 집단에서도 ANCA가 궤양성 대장염을 진단하는 표지자로서 활용될 수 있다고 생각된다. 궤양성 대장염 환자에서 ANCA의 양상은 p-ANCA가 21명(61.8%)으로 서구^{5, 28)}의 보고와 유사했으나 중국에서의 보고보다는 높았으며 Kim 등³⁰⁾이 한국인에게서 시행한 연구 보고와 유사하였다. 일부 ANCA 양성률의 차이는 검사방법과 검사대상의 연령, 성별, 질환의 활동도 및 유전적인 구성에 영향을 받을 것으로 생각되며 최근 ANCA의 검사에 간접 면역형광법보다 ELISA가 더 예민하다는 보고도 있어⁴⁾, 추후 ELISA로 ANCA를 검사하여 확인해 보는 것이 필요할 것으로 생각된다.

궤양성 대장염 환자에서 ANCA의 발현에 영향을 미치는 요인을 분석한 결과 여자환자에서 남자환자보다 그리고 병변의 부위가 넓을수록 ANCA의 발현율이 높았으나 통계적으로 의의는 없었으며 병력기간이나 질환의 활동도에 따른 ANCA 발현율의 차이는 없

어 대부분의 외국보고와 일치하였다. 일부 외국의 보고에서 부신피질 호르몬 치료군에서 ANCA 양성률이 낮다고 하였으나^{31, 32)} 본 연구에서는 부신피질 호르몬 치료여부에 따른 차이가 없었다. ANCA의 발현에 대한 여러 임상 인자의 영향력 결여와 궤양성 대장염에서 ANCA의 병인론적 근거의 부족은 차후의 연구로 ANCA의 표적항원이 밝혀지면 해결될 것으로 생각된다.

요 약

목적 : 항호중구 세포질 항체(anti-neutrophil cytoplasmic antibody; ANCA)가 궤양성 대장염과 기타 만성 염증성 장질환을 구분할 수 있는 진단적 표지자로서 유용한지를 알아보고 궤양성 대장염에서 병력기간, 질환의 활동도, 병변의 위치 및 부신피질 호르몬 치료여부에 따른 ANCA의 발현율을 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

방법 : 1994년 3월 1일부터 1995년 9월 30일까지 연세의료원에서 진단받은 만성 염증성 대장염 환자 51명의 혈청을 대상으로 간접 면역형광법을 이용하여 ANCA의 발현여부를 알아보았고, 이중 궤양성 대장염 환자 34명에서는 병력기간 및 질환의 임상증상에 따른 활동도와 대장내시경 및 방사선학적 검사를 통한 병변의 위치 그리고 부신피질 호르몬 치료와의 상관관계를 비교분석하였다.

결 과 :

1) 궤양성 대장염 환자 34명중 23명(67.6%), 질환 대조군 19명중 2명(10.5%)에서 ANCA가 발현되어 궤양성 대장염군에서 ANCA의 양성률이 통계적으로 유의있게 높았다($p=0.00006$).

2) 대상환자중 궤양성 대장염 환자군은 34명(64.2%)이었고 질환 대조군은 19명(35.8%)으로 이들은 크론병 4명, 베체트 증후군 6명, 결핵성 대장염 7명, 방사선성 대장염 2명으로 구성되었다. 궤양성 대장염 환자군에서는 23명(67.6%)에서 ANCA 양성이었는데 이중 21명에서 p-ANCA, 2명에서는 c-ANCA로 발현되었다. 건강 대조군 전 예에서 ANCA는 음성이었으나 질환 대조군에서는 베체트 증후군 1명(16.7%), 결핵성 대장염 1명(14.3%)에서 p-ANCA 양성이었다.

3) 궤양성 대장염 환자에서 ANCA의 발현에 영향

을 미치는 인자로 연령, 성별, 병력기간, 활동도, 병변 부위 및 부신피질 호르몬 치료여부를 조사하였는데, 여자환자에서 남자환자보다 그리고 병변의 부위가 넓을수록 ANCA의 양성율이 높았으나 통계적으로 유의 있는 차이는 없었다.

결론 : ANCA는 궤양성 대장염을 진단하는 표지자로서보다 만성 염증성 대장질환에서 궤양성 대장염을 예측할 수 있는 표지자로서 유용하나, 궤양성 대장염에서 병력기간, 질환의 임상 양상, 병변부위 및 부신피질 호르몬 치료 여부와 ANCA 발현사이에 상관관계가 없음을 알 수 있었다.

= Abstract =

Anti-neutrophil Cytoplasmic Antibodies(ANCA) in Patients with Chronic Inflammatory Bowel Disease

Yoon Jae Moon, M.D., Hee Dong Bae, M.D.
Hyo Jin Park, M.D., Won Ho Kim, M.D.
Suk Hoon Chung, M.D., Hyun Sook Kim, M.D.*
Chae Yoon Chon, M.D. and In Suh Park, M.D.

Department of Internal Medicine and Clinical Pathology, Yonsei University Collage of Medicine, Seoul, Korea*

Objective : Anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA), known as a useful diagnostic marker in patients with ulcerative colitis(UC), are specific for granule proteins of granulocytes and monocytes and induce distinct fluorescence patterns. To evaluate the significance of ANCA in chronic inflammatory bowel disease(IBD), the presence of ANCA in chronic IBD was studied using indirect immunofluorescent test (IIF).

Methods : Between March, 1994 and September 1995, 51 patients with chronic inflammatory bowel disease were subjected in this study. We had analysed the correlation between duration, disease activity, location by colonoscopy and radiologic examinations, steroid treatment.

Results :

1) Among 34 patients with ulcerative colitis(UC), ANCA was demonstrated in 23 patients(67.6%). Among 19 patients with other chronic IBD(4 Crohn's disease, 6 Behcet's colitis, 7 intestinal tuberculosis and 2 radiation colitis) 2 patients(10.5%) had ANCA. The positivity of ANCA in patients with UC was significantly higher than in patients with other chro-

nic IBD.

2) In patients with UC, c-ANCA was positive in 2(5.9%) patients and p-ANCA was positive in 21 (61.8%) patients. In patients with other chronic IBD, ANCA was positive in one patient with Behcet's colitis or one patient with intestinal tuberculosis but negative in all patients with Crohn's disease or radiation colitis.

3) The mean duration of disease in ANCA positive patients was 42.4 ± 39.4 months and the mean duration of disease in ANCA negative patients was 44.9 ± 36.8 months, but there was no significant difference.

4) The number of patients in clinically mild, moderate and severe group were 23(37.6%), 6(83.2%) and 5(14.7%) respectively. Among these groups the number of ANCA positive patients were 15(65.2%), 5(83.2%) and 3(60%) respectively, but there was no significant difference.

5) The number of patients with proctitis, left side colitis and pancolitis were 9(26.5%), 14(41.2%) and 11(32.4%) respectively. Among these groups the number of ANCA positive patients were 4(44.4%), 10(71.4%) and 9(81.8%) respectively, but there was no significant difference.

6) Among 13 patients with steroid treatment 9 patients(69.2%) were ANCA positive. Among 21 patients without steroid treatment 16 patients(76.2%) were ANCA positive, but there was no significant difference.

Conclusion : Although there was no correlation between ANCA and duration, disease activity, location or steroid treatment in UC patients, ANCA could be a diagnostic marker of UC in chronic IBD patients.

Key Words : Ulcerative colitis, Anti-neutrophil cytoplasmic antibody

REFERENCES

- 1) Wiik A, Jensen E, Friis J: *Granulocyte-specific antinuclear factors in synovial fluids and sera from patients with rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 33:515, 1974*
- 2) Davies DJ, Moran JE, Niall JF, Ryan GB: *Segmental necrotizing glomerulonephritis with anti-neutrophilic antibody: Possible arbovirus aetiology? Br Med J 285:606, 1982*
- 3) Falk RJ, Jennette JC: *Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis. N Engl J Med 318:1651, 1988*
- 4) Saxon A, Shanahan F, Landers C, Ganz T, Targan SA: *Distinct subset of antineutrophil cytoplasmic antibodies is associated with inflammatory bowel disease. J Allergy Clin Immunol 86:202, 1990*
- 5) Duerr RH, Targaan SR, Landers CJ, Larusso NF, Linsay KL, Wiesner RH, Shanahan F: *Neutrophil cytoplasmic antibodies: A link between primary sclerosing cholangitis and ulcerative colitis. Gastroenterology 100:1385, 1991*
- 6) Cambridge G, Rampton DS, Stevens TRJ, McCarthy DA, Kamm M, Leaker B: *Antineutrophil antibodies in inflammatory bowel disease: Prevalence and diagnostic role. Gut 33:668, 1992*
- 7) Shanahan F, Duerr RH, Rotter JI: *Neutrophil autoantibodies in ulcerative colitis: Familial aggregation and genetic heterogeneity. Gastroenterology 103:456, 1992*
- 8) Eggleton P, Gargan R, Fisher D: *Rapid method for isolation of neutrophils in high yield without the use of dextran or density gradient polymers. J Immunol Methods 121:105, 1989*
- 9) Lock RJ: *Detection of autoantibodies to neutrophil cytoplasmic antigens. J Clin Pathol 47:4, 1994*
- 10) Truelove SC, Witt LJ: *Cortisone in ulcerative colitis: Final report on a therapeutic trial. Br Med J 2:1041, 1955*
- 11) Van der Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S: *Autoantibodies against neutrophils and monocytes: Tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. Lancet 1:425, 1985*
- 12) Venning MC, Quinn A, Broomhead V, Bird AG: *Antibodies directed against neutrophils(c-ANCA and p-ANCA) are of distinct diagnostic value in systemic vasculitis. Q J Med 77:1287, 1990*
- 13) Goldschmeding R, Cohen TJW, van der Schoot CE, van der Veen C, Kallenberg CGM, von dem Borne AEGKr: *ANCA, anti-myeloperoxidase and antielastase: Three members of a novel class of autoantibodies against myeloid lysosomal enzymes. APMIS 97(Suppl 6):48, 1989*
- 14) Falk RJ, Terrell RS, Charles LA, Jennette JC: *Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies induce neutrophils to degranulate and produce oxygen radicals in vitro. Proc Natl Acad Sci USA 87: 4115, 1990*

- 15) Goldschmeding R, van der Schoot CE, ten Bokkel Huinink D: *Wegener's granulomatosis autoantibodies identify a novel diisopropylfluorophosphate-binding protein in the lysosomes of normal human neutrophils. J Clin Invest 84: 1577, 1989*
- 16) Niles JL, McClukey RT, Ahmad MF, Arnaout MA: *Wegener's granulomatosis autoantigen is a novel serine proteinase. Blood 74:1888, 1989*
- 17) Takahasi F, Das KM: *Isolation and characterization of a colonic autoantigen specifically recognized by colon tissue-bound immunoglobulin G from idiopathic ulcerative colitis. J Clin Invest 76:311, 1985*
- 18) Chapman RW, Cottone M, Selby WS, Shephard HA, Sherlock S, Jewell DP: *Serum autoantibodies, ulcerative colitis and primary sclerosing cholangitis. Gut 27:86, 1986*
- 19) Fiocchi C, Roche JK, Michener WM: *High prevalence of antibodies to intestinal epithelial antigens in patients with inflammatory bowel disease and their relatives. Ann Intern Med 110:786, 1989*
- 20) Snook JA, Chapman RW, Fleming K, Jewel DP: *Anti-neutrophil nuclear antibody in ulcerative colitis, Crohn's disease and primary sclerosing cholangitis. Clin Exp Immunol 76:30, 1989*
- 21) Korsmeyer SJ, Williams RG, Wilson ID, Strickland RG: *Lymphocytotoxic antibody in inflammatory bowel disease. N Engl J Med 293:1117, 1975*
- 22) Broekroelofs J, Mulder AHL, Nelis GF, Westerveld BD, Tervaert JWC, Kallenbeg CGM: *Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies(ANCA) in sera from patients with inflammatory bowel disease(IBM). Dig Dis Sci 39:545, 1994*
- 23) Ellerbroek PM, Pool MO, Ridwan BU, Dolman KM, von Blomberg BME, von dem Borne AEGKr, Meuwissen SG, Goldschmeding R: *Neutrophil cytoplasmic antibodies(p-ANCA) in ulcerative colitis. J Clin Pathol 47:257, 1994*
- 24) Hertervig E, Wieslander J, Johansson C, Wiik A, Nilsson A: *Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in chronic inflammatory bowel disease. Scan J Gastroenterol 30:693, 1995*
- 25) Baikovitz HI, Borle AB, Duerr RH: *The effect of ulcerative colitis associated antineutrophil cytoplasmic antibodies on respiratory burst activity of normal human neutrophils. Gastroenterology 121:A333, 1994*
- 26) Pool MO, Ellerbroek PM, Ridwan BU, Goldschmeding R, von Blomberg BME, Pena AS, Dolman KM, Bril H, Dekker W, Nauta JJ, Gans ROB, Breed H, Meuwissen SGM: *Serum antineutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease are mainly associated with ulcerative colitis. A correlation study between perinuclear antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and clinical parameters, medical and surgical treatment. Gut 34:46, 1993*
- 27) Lo SK, Fleming KA, Chapman RW: *Prevalence of antineutrophil antibody in primary sclerosing cholangitis and ulcerative colitis using an alkaline phosphatase technique. Gut 33:1370, 1992*
- 28) Deusch K, Oberstadt K, Schaedal W: *P-ANCA as a diagnostic marker in ulcerative colitis. Adv Exp Med Biol 336:527, 1993*
- 29) Sung JY, Chan LK, Hsu R, Liew CT, Lawton JWM: *Ulcerative colitis and antineutrophil cytoplasmic antibodies in Hong Kong Chinese. AM J Gastroenterol 88:864, 1993*
- 30) Kim WH, Choi PM, Landers CJ, Targan SR: *Role of antineutrophil cytoplasmic antibodies in an ethnically distinct population: Korean patients with ulcerative colitis. AM J Gastroenterol 90: 1953, 1995*
- 31) Rump JA, Scholmerich J, Gross V, Roth M, Helfesrieder R, Rautmann A: *A new type of perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibody (p-ANCA) in active ulcerative colitis but not in Crohn's disease. Immunobiology 181:406, 1990*
- 32) Roth M, Rump JA, Gross WL, Peter HM, Geroh W, Scholmerich J: *A new type of anti-neutrophil antibodies in sera from patients with ulcerative colitis but not in Crohn's disease. Gastroenterology 100:A244, 1991*