

行政院國家科學委員會專題研究計畫 期末報告

建立以醫院為基礎的僵直性脊椎炎病患世代，並且探討骨骼重塑與自體免疫耐受性的可能效應(第3年)

計畫類別：個別型
計畫編號：NSC 99-2314-B-040-019-MY3
執行期間：101年08月01日至102年07月31日
執行單位：中山醫學大學公共衛生學系(所)

計畫主持人：翁瑞宏
共同主持人：李鴻森、魏正宗、李鴻森、魏正宗、李鴻森
魏正宗
計畫參與人員：此計畫無其他參與人員

報告附件：出席國際會議研究心得報告及發表論文

公開資訊：本計畫涉及專利或其他智慧財產權，2年後可公開查詢

中華民國 102 年 10 月 25 日

中文摘要： 我們建立一個以醫院為基礎的僵直性脊椎炎病患世代，納入 1085 名病患，病患的性別比為 2.5:1，並且平均發病年齡為 27.7 ± 9.6 (標準差) 歲；而男性、較早的疾病發病年齡、以及周邊關節炎症狀相關於其臨床症狀的表現。進一步地，457 名病患被追蹤其疾病進展，男性病患相較於女性病患其長期的巴斯僵直性脊椎炎疾病活動量表 (Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index; BASDAI) 與巴斯僵直性脊椎炎整體評分 (Bath Ankylosing Spondylitis Global Score; BAS-G) 量表分數具有顯著減少；而發炎性腸道疾病 (Inflammatory bowel disease)、指尖離地距離、以及 C-反應蛋白 (C-reactive protein; CRP) 與長期的 BASDAI 量表分數之增加具有顯著相關；枕骨至牆壁距離、指尖離地距離與 CRP 值則和長期的 BAS-G 量表分數之增加具有顯著相關。蝕骨細胞抑制因子 (osteoprotegerin; OPG) 可與細胞核因子 κB 接受器活化因子 (receptor activator of nuclear factor kappa B; RANK) 競爭來與細胞核因子 κB 接受器活化因子配位基 (receptor activator for nuclear factor kappa B ligand; RANKL) 結合以抑制骨吸收作用 (bone resorption)，也已知計畫性細胞死亡-1 (programmed cell death 1; PD-1) 與其配位基的鍵結透過由蛋白酪氨酸磷酸酶 2 (src homology 2-domain-containing tyrosine phosphatase 2) 聚集的負向訊息來抑制 T 細胞的增生，人類蛋白酪氨酸磷酸酶 N22 (protein tyrosine phosphatase, nonreceptor 22; PTPN22) 和第四類細胞毒殺性 T 淋巴抗原 (cytotoxic T lymphocyte antigen-4; CTLA-4) 基因所轉譯的蛋白也主動地作用在調節 T 細胞的活性上。因此，我們評估僵直性脊椎炎的發生及其臨床表徵與所欲探討的基因型之相關。結果顯示骨骼重塑 (OPG) 以及自體免疫耐受性相關基因 (PD-1、PD-L1、PD-L2、PTPN22、CTLA-4) 是相關於台灣人僵直性脊椎炎的發生與臨床表徵。

中文關鍵詞： 僵直性脊椎炎、疾病自然史、骨骼重塑、自體免疫耐受性

英文摘要： We established a hospital-based cohort of patients with ankylosing spondylitis (AS), 1085 patients were enrolled. The sex ratio of the patients was 2.5:1 and mean age at disease onset was 27.7 ± 9.6 (standard deviation) years. Male, early age at disease onset, and presence of peripheral arthritis were correlated with the manifestation of clinical symptoms. Furthermore, 457 patients were followed up their disease progression. Male patients had a significant

decrease in long-term Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI) and Bath Ankylosing Spondylitis Global (BAS-G) scores than did women patients. Inflammatory bowel disease, fingertip-to-floor distance, and C-reactive protein (CRP) were significantly associated with increased scores of long-term BASDAI. Occiput-to-wall distance, fingertip-to-floor distance, and CRP concentration were significantly associated with increased BAS-G scores. Osteoprotegerin (OPG) can compete against receptor activator of nuclear factor kappa B (RANK) by binding to receptor activator for nuclear factor kappa B ligand (RANKL) to inhibit bone resorptions. It has also been known that the binding of programmed cell death 1 (PD-1) with its ligands inhibits T cell proliferation through a negative signal via recruitment of src homology 2-domain-containing tyrosine phosphatase 2. Human protein tyrosine phosphatase, nonreceptor 22 (PTPN22) and cytotoxic T lymphocyte antigen-4 (CTLA-4) genes encode proteins are also actively involved in regulating T-cell activation. Therefore, we evaluated the association between occurrence and clinical features of AS and interest genotypes. Results showed that bone remodeling (OPG) and autoimmune tolerance related genes (PD-1, PD-L1, PD-L2, PTPN22, and CTLA-4) were associated with the development and manifestation of Taiwanese AS.

英文關鍵詞： ankylosing spondylitis, natural history, bone remodeling, autoimmune tolerance

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫

- 期中進度報告
期末報告

建立以醫院為基礎的僵直性脊椎炎病患世代，並且探討骨骼重塑與自體免疫耐受性的可能效應

計畫類別：個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：NSC 99-2314-B-040-019-MY3

執行期間：99年08月01日至102年07月31日

執行機構及系所：中山醫學大學 公共衛生學系

計畫主持人：翁瑞宏 教授

共同主持人：魏正宗 副教授、李鴻森 副教授

計畫參與人員：黃駿煌、黃家禎、莊志賢、蔡巧湄、洪佩萱、蔡燕微、曾子晏、
方韻涵

本計畫除繳交成果報告外，另含下列出國報告，共 1 份：

- 移地研究心得報告
出席國際學術會議心得報告
國際合作研究計畫國外研究報告

處理方式：除列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

- 涉及專利或其他智慧財產權，一年二年後可公開查詢

中 華 民 國 102 年 08 月 01 日

摘要

我們建立一個以醫院為基礎的僵直性脊椎炎病患世代，納入 1085 名病患，病患的性別比為 2.5:1，並且平均發病年齡為 27.7 ± 9.6 (標準差) 歲；而男性、較早的疾病發病年齡、以及周邊關節炎症狀相關於其臨床症狀的表現。進一步地，457 名病患被追蹤其疾病進展，男性病患相較於女性病患其長期的巴斯僵直性脊椎炎疾病活動量表 (Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index; BASDAI) 與巴斯僵直性脊椎炎整體評分 (Bath Ankylosing Spondylitis Global Score; BAS-G) 量表分數具有顯著減少；而發炎性腸道疾病 (Inflammatory bowel disease)、指尖離地距離、以及 C-反應蛋白 (C-reactive protein; CRP) 與長期的 BASDAI 量表分數之增加具有顯著相關；枕骨至牆壁距離、指尖離地距離與 CRP 值則和長期的 BAS-G 量表分數之增加具有顯著相關。蝕骨細胞抑制因子 (osteoprotegerin; OPG) 可與細胞核因子 κ B 接受器活化因子 (receptor activator of nuclear factor κ B; RANK) 競爭來與細胞核因子 κ B 接受器活化因子配位基 (receptor activator for nuclear factor κ B ligand; RANKL) 結合以抑制骨吸收作用 (bone resorption)，也已知計畫性細胞死亡-1 (programmed cell death 1; PD-1) 與其配位基的鍵結透過由蛋白酪氨酸磷酸酶 2 (src homology 2-domain-containing tyrosine phosphatase 2) 聚集的負向訊息來抑制 T 細胞的增生，人類蛋白酪氨酸磷酸酶 N22 (protein tyrosine phosphatase, nonreceptor 22; PTPN22) 和第四類細胞毒殺性 T 淋巴抗原 (cytotoxic T lymphocyte antigen-4; CTLA-4) 基因所轉譯的蛋白也主動地作用在調節 T 細胞的活性上。因此，我們評估僵直性脊椎炎的發生及其臨床表徵與所欲探討的基因型之相關。結果顯示骨骼重塑 (OPG) 以及自體免疫耐受性相關基因 (PD-1、PD-L1、PD-L2、PTPN22、CTLA-4) 是相關於台灣人僵直性脊椎炎的發生與臨床表徵。

關鍵詞：僵直性脊椎炎、疾病自然史、骨骼重塑、自體免疫耐受性

Abstract

We established a hospital-based cohort of patients with ankylosing spondylitis (AS), 1085 patients were enrolled. The sex ratio of the patients was 2.5:1 and mean age at disease onset was 27.7 ± 9.6 (standard deviation) years. Male, early age at disease onset, and presence of peripheral arthritis were correlated with the manifestation of clinical symptoms. Furthermore, 457 patients were followed up their disease progression. Male patients had a significant decrease in long-term Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI) and Bath Ankylosing Spondylitis Global (BAS-G) scores than did women patients. Inflammatory bowel disease, fingertip-to-floor distance, and C-reactive protein (CRP) were significantly associated with increased scores of long-term BASDAI. Occiput-to-wall distance, fingertip-to-floor distance, and CRP concentration were significantly associated with increased BAS-G scores. Osteoprotegerin (OPG) can compete against receptor activator of nuclear factor kappa B (RANK) by binding to receptor activator for nuclear factor kappa B ligand (RANKL) to inhibit bone resorptions. It has also been known that the binding of programmed cell death 1 (PD-1) with its ligands inhibits T cell proliferation through a negative signal via recruitment of src homology 2-domain-containing tyrosine phosphatase 2. Human protein tyrosine phosphatase, nonreceptor 22 (PTPN22) and cytotoxic T lymphocyte antigen-4 (CTLA-4) genes encode proteins are also actively involved in regulating T-cell activation. Therefore, we evaluated the association between occurrence and clinical features of AS and interest genotypes. Results showed that bone remodeling (OPG) and autoimmune tolerance related genes (PD-1, PD-L1, PD-L2, PTPN22, and CTLA-4) were associated with the development and manifestation of Taiwanese AS.

Keywords: ankylosing spondylitis, natural history, bone remodeling, autoimmune tolerance

目錄

中文摘要.....	I
英文摘要.....	III
目錄.....	V
圖表目錄.....	VII
第一章 緒論.....	1
第一節 研究背景與動機.....	1
第二節 研究目的與假設.....	1
第二章 文獻探討.....	3
第一節 僵直性脊椎炎.....	3
第二節 臨床特徵與病程.....	3
第三節 流行病學.....	3
3.1 性別.....	3
3.2 年齡.....	4
3.3 種族.....	4
3.4 家族史.....	4
3.5 基因.....	5
3.6 細菌.....	5
第四節 疾病自然史.....	6
第五節 僵直性脊椎炎評估量表.....	6
第六節 理學檢查與血液生化指標.....	7
第七節 骨骼重塑 (bone remodeling) 與脊椎關節疾病之相關性.....	7
第八節 RANKL、RANK 與 OPG 基因多形性.....	8
第九節 自體免疫耐受性.....	9
第十節 PD-1、PD-L1 與 PD-L2 基因多形性.....	10
第十一節 CTLA-4 與 PTPN22 基因多形性.....	10
參考文獻.....	10
研究設計.....	15
第三章 僵直性脊椎炎疾病自然史與疾病進展的預測因子：一項台灣以醫院為基礎的世代研究....	17
摘要.....	17
前言.....	17
病患與材料方法.....	18
研究對象.....	18
問卷.....	18
臨床評估和實驗室分析.....	18
統計分析.....	18
結果.....	19
討論.....	20
參考文獻.....	22
第四章 蝕骨細胞抑制因子基因多形性與僵直性脊椎炎的初始症狀發病年齡.....	31
摘要.....	31
前言.....	31
材料與方法.....	32
病患和對照.....	32
HLA-B27 狀態和 RANK、RANKL、以及 OPG 基因多形性.....	32
統計分析.....	33
結果.....	33

討論.....	34
參考文獻.....	35
第五章 計畫性細胞死亡-1 與其配位基基因多形性在僵直性脊椎炎發展上的效應.....	43
摘要.....	43
前言.....	43
材料與方法.....	44
病患和對照.....	44
基因多形性判定.....	44
統計分析.....	44
結果.....	44
討論.....	45
參考文獻.....	45
第六章 蛋白酪氨酸磷酸酶 (PTPN22) 和第四類細胞毒殺性 T 淋巴抗原 (CTLA-4) 基因多形性與 台灣僵直性脊椎炎之相關.....	48
摘要.....	48
前言.....	48
材料與方法.....	49
研究對象.....	49
巴斯僵直性脊椎炎指數.....	49
實驗室分析.....	49
統計分析.....	50
結果.....	50
討論.....	51
參考文獻.....	52
第七章 結論與建議.....	59
第一節 結論.....	59
第二節 未來建議.....	59

圖表目錄

表 3-1：僵直性脊椎炎病患之基本人口學特徵、運動習慣、個人及家族疾病史、藥物使用狀況、HLA-B27 基因、巴斯僵直性脊椎炎評估量表、理學檢查與血液生化指標於不同性別分組間之分佈.....	24
表 3-2：僵直性脊椎炎病患之基本人口學特徵、運動習慣、個人及家族疾病史、藥物使用狀況、HLA-B27 基因、巴斯僵直性脊椎炎評估量表、理學檢查與血液生化指標於不同首次症狀發病年齡分組間之分佈.....	25
表 3-3：僵直性脊椎炎病患之基本人口學特徵、運動習慣、個人及家族疾病史、藥物使用狀況、HLA-B27 基因、巴斯僵直性脊椎炎評估量表、理學檢查與血液生化指標於不同周邊關節炎分組間之分佈.....	26
表 3-4：以一般線性混合模式分析影響病患長期疾病活動程度變化 (BASDAI) 之因素.....	27
表 3-5：以一般線性混合模式分析影響病患長期整體身心舒適狀態變化 (BAS-G) 之因素.....	28
圖 3-1：僵直性脊椎炎病患於追蹤期間內 BASDAI (a)、BASFI (b)、BAS-G (c) 量表分數之變化情形 (mean ± 95% C.I.)、每年曲線下面積以及每年改變量.....	30
表 4-1：僵直性脊椎炎病患與對照之基本與臨床特徵.....	38
表 4-2：RANK、RANKL、與 OPG 基因型以及對偶基因頻率分佈與僵直性脊椎炎發生之相關性.....	39
表 4-3：在不同 OPG 基因型分組之中，僵直性脊椎炎病患的臨床表徵.....	40
表 4-4：在有無周邊關節炎、虹彩炎、以及發炎性腸道疾病的僵直性脊椎炎病患中，OPG 基因型之分佈.....	41
圖 4-1：僵直性脊椎炎病患的初始症狀發病年齡在不同 OPG 對偶基因、HLA-B27、與性別分組之間的差異.....	42
表 5-1：PD-1、PD-L1、以及 PD-L2 多形性在僵直性脊椎炎病患與正常對照中的頻率.....	47
表 6-1：僵直性脊椎炎病患與健康對照之人口學和臨床特徵.....	55
表 6-2：PTPN22 -1123G/C 以及 CTLA-4 +49A/C 基因型和對偶基因在僵直性脊椎炎病患與健康對照的頻率.....	56
表 6-3：PTPN22 -1123G/C 與 CTLA-4 +49A/C 多形性在僵直性脊椎炎發生上之合併效應.....	57
表 6-4：PTPN22 -1123G/C 與 CTLA-4 +49A/C 多形性在僵直性脊椎炎病患之發炎性腸道疾病盛行率的效應.....	58

第一章 緒論

第一節 研究背景與動機

僵直性脊椎炎 (ankylosing spondylitis ; AS)，為血清陰性脊椎關節病變 (seronegative spondyloarthropathy ; SpA) 中典型的自體免疫疾病。這類疾病主要的臨床特徵為病患血清中之類風濕因子 (rheumatoid factor ; RF) 呈現陰性反應，而類風濕因子是一種血液中產生對抗 G 型免疫球蛋白 (IgG) Fc 位置的耐受性阻抗自體抗體 (tolerance-resistant autoantibody)，常見為 M 型免疫球蛋白 (IgM)；如果此類因子於關節處大量地合成及表現，將會產生一些自體免疫疾病，如類風濕性關節炎 (rheumatoid arthritis ; RA)。此外，血清陰性脊椎關節病變也包含了萊特氏症候群 (Reiter's syndrome)、乾癬性關節炎 (psoriatic arthropathy)、發炎性腸道疾病 (inflammatory bowel disease) 以及未分化型脊椎關節病變 (undifferentiated spondyloarthropathy)，其主要症狀皆是脊椎與周邊關節處具有高度的發炎反應表現。

疾病於個體中為一個自然發展的過程，而疾病自然史 (natural history of disease) 是描述個體自暴露那一刻開始至復原或死亡為止，個體疾病持續不斷的變化情形。研究疾病自然史能夠應用病患自身的經驗來幫助病患，亦可以對於尚未瞭解病因之疾病提供相關致病因子知識的瞭解。因此，透過瞭解僵直性脊椎炎的疾病自然史與病程 (course) 也能夠幫助我們找出影響疾病病程以及預後的可能因素，有助於未來改善以及介入病患疾病之結果。然而，在僵直性脊椎炎研究進展的過程中，儘管已經對於相關基因與環境因子具有相當程度的瞭解，但是想要明確地定義僵直性脊椎炎的疾病自然史仍顯不足；其中，一項原因為僵直性脊椎炎的疾病活動程度 (disease activity)、嚴重程度、結果或功能等等概念難以清楚界定。另外，像是疾病症狀的紓解 (remission) 及復發 (relapse) 亦是無法被準確地定義其含義；並且現今相關研究所追蹤的時程對於僵直性脊椎炎之病程而言，多屬於較為短期的研究所致。

重要的是，脊椎骨質流失 (osteopenia) 是辨別僵直性脊椎炎的症狀之一；而骨質減少是蝕骨細胞 (osteoclast) 與成骨細胞 (osteoblast) 態勢失衡的現象。造骨細胞所產生的細胞核因子 κ B 配位體接受器活化因子 (receptor activator for nuclear factor kappa B ligand ; RANKL) 結合於蝕骨細胞前驅細胞膜上的細胞核因子 κ B 接受器活化因子 (receptor activator of nuclear factor kappa B ; RANK)，可導致蝕骨細胞的分化與成熟。而蝕骨細胞抑制因子 (osteoprotegerin ; OPG) 為調節骨吸收的醣蛋白，可與細胞核因子 κ B 配位體接受器活化因子 (RANKL) 結合，進而抑制骨吸收作用。然而，骨質重塑模式之 RANK/RANKL/OPG 基因於僵直性脊椎炎中之分子角色是不清楚的。

重要的是，免疫耐受性之失衡已經被發現與自體免疫疾病發生具有相關性；而 $CD4^+$ T 細胞及 $CD8^+$ T 細胞也被發現在僵直性脊椎炎患者中相較健康對照有較高的表現，此較高的表現可能與活化 T 細胞的抑制訊息失衡具有相關性。抗原呈現細胞 (antigen presenting cell ; APC) 表面的 B7-1 與活化 T 細胞表面的計畫性細胞死亡-1 配位基 (programmed cell death-1 ligand ; PD-L) 鍵結可產生抑制活化 T 細胞的共刺激訊息，活化 T 細胞上的計畫性細胞死亡-1 (programmed cell death-1 ; PD-1) 與其計畫性細胞死亡-1 配位基-1 (programmed cell death-1 ligand 1 ; PD-L1) 以及計畫性細胞死亡-1 配位基-2 (programmed cell death-1 ligand 2 ; PD-L2) 結合亦可以傳遞抑制活化 T 細胞的訊息。除此之外，蛋白酪氨酸磷酸酶 N22 (protein tyrosine phosphatase, nonreceptor 22 ; PTPN22) 基因會轉譯淋巴酪氨酸磷酸酶 (lymphoid tyrosine phosphatase ; LYP)，而 LYP 蛋白可以進行去磷酸化 (dephosphorylation) 功能以抑制 T 細胞活化；LYP 也會藉由生長因子受體結合蛋白 2 (Growth factor receptor-bound protein 2 ; Grb2) 與第四類細胞毒殺性 T 淋巴抗原 (cytotoxic T lymphocyte antigen-4 ; CTLA-4) 鍵結後傳遞負向訊息給 T 細胞。此外，當 CTLA-4 與 B7-1 (CD80) 及 B7-2 (CD86) 結合，可對於 CD28 作用於活化 T 細胞所產生之共刺激訊號進行負調節，以避免過度活化。特別的是，PTPN22 與 CTLA-4 可能在自體免疫耐受性的初期扮演著迅速抑制過度活化 T 細胞的角色，而 PD-1 與 PD-L1 和 PD-L2 鍵結的抑制訊息可能作用在免疫耐受性的晚期及後續之平衡的維持上。然而，自體免疫耐受性相關基因於僵直性脊椎炎中之分子角色是不清楚的。

第二節 研究目的與假設

由於僵直性脊椎炎本質多元 (heterogeneous)，病程時間長且缺乏合適與有效的測量工具；在台灣，同樣鮮少有研究針對僵直性脊椎炎建立病患資料庫，以及探討其相關的流行病學與疾病自然史。此外，雖然多數的僵直性脊椎炎病患為 HLA-B27 陽性；然而，HLA-B27 陽性者並未全然地發展成僵直性脊

椎炎。骨骼重塑模式與自體免疫耐受性相關基因及其交互作用，在僵直性脊椎炎的發病過程中之效應尚未被釐清。因此，我們設計一個以醫院為基礎的世代研究 (cohort study)，來瞭解台灣僵直性脊椎炎臨床流行病學之現況；並且探討僵直性脊椎炎病患的疾病自然史，尋找影響疾病病程以及預後的可能因素。接續執行病例對照研究 (case-control study)，探討骨骼重塑模式以及自體免疫耐受性相關基因與僵直性脊椎炎發生的可能相關。我們的研究目的與假設是：

第一部分：僵直性脊椎炎病患之世代建立

1. 建立僵直性脊椎炎病患資料庫，瞭解僵直性脊椎炎臨床流行病學之現況。
2. 探討僵直性脊椎炎的疾病自然史，尋找影響疾病病程以及預後的可能因素。
3. 評估病患血液生化指標 CRP 與僵直性脊椎炎疾病活動程度 (BASDAI) 之關係，訂立出疾病活動程度診斷之切點，協助建立臨床對於僵直性脊椎炎診斷與治療之決策依據。

第二部分：探討骨骼重塑模式之 RANKL/RANK/OPG 基因多形性與僵直性脊椎炎發生的可能相關

1. 僵直性脊椎炎病患相較於健康對照，可能具有較高比例的易感受性RANKL -290 C對偶基因、較高比例的易感受性RANK 575 T對偶基因、以及較高比例的易感受性OPG 1181 G對偶基因。
2. 在僵直性脊椎炎病患中，攜帶易感受性RANK 575 T對偶基因者相較未攜帶RANK易感受性對偶基因者可能有較差之預後指標 (BASDAI、BASFI及BAS-G值) 與臨床表徵；攜帶易感受性RANKL -290 C對偶基因者相較未攜帶RANKL易感受性對偶基因者也可能有較差之預後指標 (BASDAI、BASFI及BAS-G值) 與臨床表徵。同樣地在病患中，攜帶易感受性OPG 1181 G對偶基因者相較未攜帶OPG易感受性對偶基因者可能有較差之預後指標與臨床表徵。
3. 易感受性RANKL、RANK、OPG基因多形性可能對於僵直性脊椎炎的發生具有交互作用存在。

第三部分：探討自體免疫耐受性相關基因 (PD-1、PD-L1、PD-L2、CTLA-4 與 PTPN22) 與僵直性脊椎炎發生的可能相關

1. 相較於攜帶 PD-1 -536G 對偶基因者，PD-1 -536A 對偶基因者可能具有較高的僵直性脊椎炎發生危險；相較於攜帶 PD-L1 8923A 對偶基因者，PD-L1 8923C 對偶基因者可能具有較高的僵直性脊椎炎發生危險；相較於攜帶 PD-L2 47103 T 對偶基因者，PD-L2 47103C 對偶基因者可能具有較高的僵直性脊椎炎發生危險。
2. 相較於攜帶 CTLA-4 +49A 對偶基因者，CTLA-4 +49G 對偶基因者可能具有較高的僵直性脊椎炎發生危險。相較於攜帶 PTPN22 -1123G 對偶基因者，PTPN22 -1123C 對偶基因者也可能具有較高的僵直性脊椎炎發生危險。
3. 同時具有易感受性 PD-1 -536G、PD-L1 8923C 與 PD-L2 47103C 對偶基因者，可能呈現較高的僵直性脊椎炎發生危險。
4. 同時具有易感受性 CTLA-4 +49A 與 PTPN22 -1123G 對偶基因者相較於同時未具有 CTLA-4 +49A 與 PTPN22 -1123G 對偶基因者，可能呈現較高的僵直性脊椎炎發生危險。
5. 在僵直性脊椎炎病患中，攜帶 PD-1 易感受性基因型者、攜帶 PD-L1 易感受性基因型者、攜帶 PD-L2 易感受性基因型者、攜帶 CTLA-4 易感受性基因型者、攜帶 PTPN22 易感受性基因型者，分別相較於未攜帶 PD-1 易感受性基因型者、未攜帶 PD-L1 易感受性基因型者、未攜帶 PD-L2 易感受性基因型者、未攜帶 CTLA-4 易感受性基因型者、以及未攜帶 PTPN22 易感受性基因型者可能有較差之預後指標 (BASDAI、BASFI 及 BAS-G 值) 與臨床表徵。

第二章 文獻探討

第一節 僵直性脊椎炎 (ankylosing spondylitis [AS])

僵直性脊椎炎，為血清陰性脊椎關節病變 (seronegative spondyloarthropathy) 中典型的自體免疫疾病 [1]。這類疾病主要的臨床特徵為病患血清中之類風濕因子 (rheumatoid factor) 呈現陰性反應，而類風濕因子是種血液中產生對抗 G 型免疫球蛋白 (IgG) Fc 位置的耐受性阻抗自體抗體 (tolerance-resistant autoantibody)，常見為 M 型免疫球蛋白 (IgM)；如果此類因子於關節處大量地合成及表現，將會產生一些自體免疫疾病，如類風濕性關節炎 (rheumatoid arthritis) [2]。此外，血清陰性脊椎關節病變也包含了萊特氏症候群 (Reiter's syndrome)、乾癬性關節炎 (psoriatic arthropathy)、發炎性腸道疾病 (inflammatory bowel disease) 與未分化型脊椎關節病變 (undifferentiated spondyloarthropathy)，主要症狀皆是脊椎與周邊關節處具有高度的發炎表現 [1]。

雖然僵直性脊椎炎沒有嚴重的致命性，但是對於患者的生活品質卻具有顯著的衝擊。一項於歐洲三國的長期追蹤研究中觀察到，僵直性脊椎炎病患每天平均需要花費 75 分鐘在相關的疾病照護，其中患者 79% (約一小時) 的時間花費在白天時因身體疼痛與僵硬，需要額外的時間休息或運動以減緩身體的不適；而此類病患額外的金錢與時間的花費可能與本身具有較差的身體活動功能以及疾病的嚴重程度相關 [3]。因此，僵直性脊椎炎患者如果拖延治療的時間可能導致更嚴重的疾病狀況，並且需花費更多的時間與金錢在治療上，對個人或其家庭的生活品質和經濟收入均有負面的影響。

第二節 臨床特徵與病程 (course)

僵直性脊椎炎典型的症狀為下背痛 (low back pain)、脊椎活動範圍受限、以及晨間僵硬 [4]；主要侵犯部位為脊椎與周邊關節，肌腱、韌帶、關節膜與骨骼交界點 (enthesis) 等處，嚴重時甚至侵犯全身的骨頭及關節。而在已被侵犯的關節滑膜、肌腱接骨點以及附近軟組織，起初有發炎反應，漸漸呈現不等的骨質破壞、鈣化、或是纖維化，特別是在椎間盤骨 (intervertebral discs) 的邊緣會有橋接骨刺 (bridging spurs)。在臀部兩側的薦腸關節 (sacroiliac joint) 及腰椎位置起初有成骨化現象，嚴重時成骨化會由腰椎往上蔓延至胸椎，甚至到頸椎；末期因脊椎黏合而無法彎曲，形成竹竿狀的脊椎，因而造成畸型與駝背 [4]。部分病患也被診斷出具有關節外症狀，包括皮膚乾癬 (psoriasis)、腸胃道發炎、泌尿生殖道發炎或黏膜潰瘍、眼睛會有虹彩炎 (iritis) 或葡萄膜炎 (uveitis) [5]。

疾病自然史 (natural history of disease) 是描述個體自暴露開始至復原或死亡為止，個體疾病持續的變化情形；因此，瞭解僵直性脊椎炎的疾病自然史與病程也能夠幫助我們找出影響疾病病程以及預後的可能因素。然而，在僵直性脊椎炎研究進展的過程中，想要明確地定義疾病自然史仍顯不足；其中，一項原因為僵直性脊椎炎的疾病活動程度 (disease activity)、嚴重程度、結果或功能等等概念難以清楚界定。另外，像是疾病症狀的紓解 (remission) 及復發 (relapse) 亦是無法被準確地定義 [6]；並且現今相關研究所追蹤的時程對於僵直性脊椎炎之病程而言，多屬於較為短期的研究所致。

在臨床上，經常面臨到的問題就是必須對於求診者作出明確的診斷與治療。對於僵直性脊椎炎患者而言，若能明確且快速地得知病患目前是否處於發炎的狀況，即能夠提早治療與控制病情；也能夠即時提供資訊給醫師來確認對於病患的藥物治療是否有效。但不同於其他風濕性疾病，若欲對於僵直性脊椎炎患者執行其疾病活動程度的評估，普遍被認為是困難的。而如 C-反應蛋白 (C-reactive protein [CRP]) 與紅血球沉降速率 (erythrocyte sedimentation rate [ESR]) 皆為經常使用於評估僵直性脊椎炎患者其體內發炎狀態的指標，然而，CRP 或 ESR 與僵直性脊椎炎患者其疾病活動程度之間的關聯性仍然頗具爭論。其中，一項原因為僵直性脊椎炎的疾病情形較為複雜；雖然多數患者是具有明顯的脊椎關節與脊椎以外關節組織損壞之情形，但是始終缺乏合適及有效的工具來偵測病患疾病活動程度的細微改變；因此至今，僵直性脊椎炎患者的疾病活動程度與血液生化指標間之關係仍然尚未被釐清。

第三節 流行病學

僵直性脊椎炎是多因子所導致的疾病，性別 [7-10]、年齡 [8, 11]、種族 [12-21]、家族史 [10, 22]、基因 [9, 12, 16, 23-30] 及細菌感染 [24, 31-33] 可能對於此病之發展扮演重要的角色。

3.1 性別

僵直性脊椎炎在男性盛行比例是高於女性 [7-10]；然而，性別差異對其致病機轉之貢獻卻少被探

討。Kennedy 等人 [7] 研究英國巴斯 (Bath) 的皇家國立風濕病醫院 (Royal National Hospital for Rheumatic Diseases) 以及國家僵直性脊椎炎協會 (National Ankylosing Spondylitis Society) 的僵直性脊椎炎個案，發現其整體的男女性別比例是 2.6:1。在台灣，根據先前的一項僵直性脊椎炎研究中所選取的研究個案，計算其男女性別比是 2.4:1 [9]。Calin 等人 [10] 選取 4,400 位來自皇家國立風濕病醫院以及國家僵直性脊椎炎協會的僵直性脊椎炎個案，發現在女性患者的小孩或是其兄弟姐妹間疾病的發生與性別並無統計上的差異；相對地，男性患者的兒子或其兄弟分別相較於女兒或其姊妹則有顯著較高的疾病發生危險性。研究者推論男性可能在遺傳上相較於女性攜帶較多的易感受性基因因子，故男性較易發病；而女性需要攜帶更充分的易感受性基因因子才會發病，此為遺傳負荷效應 (genetic load effect)。另一原因可能與子宮效應 (uterine effect) 相關，女性患者之子女罹病的機率相較男性患者之子女皆較高；可能是因為女性患者藉由胎盤將環境誘病因子傳遞給胎兒，而男性患者無法經由此路徑將誘病因子傳遞給後代。再者，粒線體 DNA 的影響可能也是導致發病的因素。女性患者之子女罹患僵直性脊椎炎的比例較男性患者之子女高，也可能是女性患者可藉由粒線體 DNA 遺傳模式將僵直性脊椎炎相關易感受性基因因子傳遞至子代。此外，Y 染色體上也可能攜帶有相關於僵直性脊椎炎的易感受性基因；男性攜帶 Y 染色體，並且於 Y 染色體上的易感受性基因在與 HLA-B27 交互作用下，可能導致男性有較高的僵直性脊椎炎機率，但是此推論仍需進一步地釐清。

3.2 年齡

僵直性脊椎炎好發於 16 至 40 歲的成年人 [8]，較少發生於 45 歲之後。一項僵直性脊椎炎世代研究發現 [11]，初始症狀發病年齡為 0-21 歲者相較於初始症狀發病年齡為 30 歲以上者，有顯著較高的巴斯僵直性脊椎炎放射指數 (Bath Ankylosing Spondylitis Radiological Index [BASRI]) 以及較低的巴斯僵直性脊椎炎疾病活性指數 (Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index [BASDAI])；研究者推論初始症狀發病年齡與患者臀部病變及疾病活動程度相關，而未相關於疾病的嚴重程度。患者的發病年齡可能與遺傳負荷效應相關 [11]，症狀發病年齡較年輕者相較發病年齡較年長者可能遺傳上攜帶較多的易感受性因子，因而易早發作；然而，年輕發病的病人即使攜帶較多易感受性因子並不會影響其疾病的嚴重程度。相對地，患者發病年齡也可能與接觸到環境誘病因子 (如細菌) 具有相關，但確切的原因並不清楚；因此，患者發病年齡可能與遺傳因子或是後天接觸到環境誘病因子相關。

3.3 種族

僵直性脊椎炎盛行率在不同族群之間的差異分佈，可能與 HLA-B27 陽性在不同族群之分佈相關 [12]。北美印地安人相較於其他族群有較高的僵直性脊椎炎盛行率，達 4%；此族群亦有較高的 HLA-B27 陽性率為 50% [13]。美國白人的僵直性脊椎炎盛行率是 0.13-0.22%，90% 的白人患者攜帶 HLA-B27，一般族群之 HLA-B27 陽性率則是 8% [14, 15]；然而，美國黑人因為與白人族群的融合，其 HLA-B27 陽性的盛行率約是 2%，美國黑人僵直性脊椎炎患者的 HLA-B27 盛行率則是 50% [12, 14]。歐洲人族群的僵直性脊椎炎盛行率為 0.15-0.9%，HLA-B27 盛行率是 7-16% [16]。在日本，僵直性脊椎炎盛行率是 0.0065%，如此低的盛行率可能與 HLA-B27 在日本一般族群中的低陽性率 (小於 1%) 有關 [17]。過去在南非 [18]、辛巴威 (Zimbabwe) [19] 及多哥 (Togo) [20] 三個地區的教學醫院中，分別實施長達 27 個月以上的觀察，分別發現八名、九名及九名僵直性脊椎炎患者，其中只有一位病患攜帶 HLA-B27。華人僵直性脊椎炎盛行率大概是 0.01-0.54%，患者之 HLA-B27 陽性率約是 95%；然而，在一般華人族群的 HLA-B27 陽性之頻率約是 6-8% [21]。

3.4 家族史

目前，在僵直性脊椎炎家族遺傳的相關研究並不多。一項早期在荷蘭所進行的家族史研究納入 100 名僵直性脊椎炎病患、100 名類風濕性關節炎病患與 100 名健康對照 [22]，以及此 300 名研究個案的家人，包括祖父母、父母、小孩及旁系親屬共 7405 名。而類風濕性關節炎病患之家屬中有 58 名同為此病病患，分佈在 34 個家庭，家族併發率 (families occurrence) 為 34%；其中 28 個家庭是經由父母遺傳得病，其餘的病患其兄弟姐妹亦具此疾病。而在僵直性脊椎炎病患之家屬中，有 45 名同為此病病患，分佈在 30 個家庭，家族併發率為 30%；其中 18 個家庭是經由父母遺傳得病，其餘的病患其兄弟姐妹亦有此疾病，並且在某些家庭中均有僵直性脊椎炎及類風濕性關節炎病患。有僵直性脊椎炎病患的家

屬相較於健康對照的家屬其罹病之家族遺傳為 22 倍的危險性，有類風濕性關節炎病患的家屬相較於健康對照有三倍的罹病危險性；由此可知，僵直性脊椎炎的家族遺傳機率相較於類風濕性關節炎為高，特別在僵直性脊椎炎的一等親家屬中具有高度顯性遺傳。在另一項於加拿大收集一名僵直性脊椎炎病患的五代親屬之相關疾病史的研究中 [10]，發現在此家族第二代就具有關節病變發生，第三代親屬 15 人中有八人具有脊椎關節相關疾病，其中五人罹患僵直性脊椎炎，在 22 名第四代親屬中 15 人具有脊椎關節相關疾病，其中三人罹患僵直性脊椎炎。進一步地發現若母親為僵直性脊椎炎病患，其女兒罹患的機率會大幅提昇，且一等親遺傳外顯率 (penetrance) 比較高；若父親有僵直性脊椎炎，其兒子罹患的危險性也為女兒的 2.5 倍 [10]。目前僵直性脊椎炎家族遺傳之機制並未完全地被釐清，無論如何，家族疾病史可能對於僵直性脊椎炎之發生扮演一定程度的角色。

3.5 基因

早年，主要組織適應性複合體 (major histocompatibility complex [MHC]) 中的 HLA-B27 基因即被證實與僵直性脊椎炎之發生具有高度的相關 [23]。HLA-B27 基因位於染色體 6p，其結構上有一凹槽 (peptide binding groove)，是決定抗原與 HLA-B27 結合的關鍵 [24]。HLA-B27 亞型包含 HLA-B2701 到 HLA-B2725 [25]，台灣漢人族群的僵直性脊椎炎患者以 HLA-B2704 亞型居多 (93.9%) [16, 26]；在僵直性脊椎炎高盛行率的北美印地安人中，則以 HLA-B2705 亞型居多 [16]。雖然多數僵直性脊椎炎患者具備 HLA-B27 陽性；然而，HLA-B27 僅能解釋基因貢獻於僵直性脊椎炎發生的 16% 之變異 [25]。

除了 HLA-B27 以外，Wei 等人 [26] 也觀察到攜帶 HLA-B27 陰性的台灣僵直性脊椎炎病患的發病與其 HLA-B60 及 HLA-B61 基因具有統計相關；可能是 HLA-B60 與 HLA-B27 的 T 細胞抗原決定位 (T-cell epitopes) 有相似位置 [34]，因此，自體免疫細胞可能誤認 HLA-B60 為 HLA-B27，進而導致攜帶 HLA-B27 陰性的患者發病。TGF- β 1 可促使 B 細胞分化成免疫球蛋白 A (immunoglobulin A [IgA])，而在僵直性脊椎炎病患中可觀察到血清 IgA 之增加，此增加也與對抗革蘭氏陰性菌 (gram negative bacteria) 相關 [35]；進一步地，TGF- β 1 +1632 位置的 T 對偶基因 (allele) 則被觀察到與芬蘭的僵直性脊椎炎病患發病有統計相關 [27]。在動物實驗中則發現，介白質素 1 (interleukin 1 [IL-1]) 家族中的 IL-1 α 和 IL-1 β 在關節損傷中向上調節發炎反應，且 IL-1Ra (IL-1 receptor antagonist) 可藉由與 IL-1 接受器結合以抑制 IL-1 作用 [36]。而 IL-1 gene cluster 中的 IL-1F10.3、IL-1RN.4、IL-1RN.VNTR、IL-1RN6/1 及 IL-1RN6/2 的基因型 (genotype)、對偶基因及單倍體 (haplotype) 也被報告與台灣僵直性脊椎炎病患的發病具有統計相關性 [9]。然而，英國僵直性脊椎炎患者之發病與 IL-1 α 和 IL-1 β 對偶基因並無統計相關，而 IL-1Ra 可能與僵直性脊椎炎具有相關性 [28]；此差異可能與研究對象之族群不同有關。此外，toll-like receptor 4 (TLR4) 可能也是僵直性脊椎炎的易感受性因子。TLR4 是酯多醣 (lipopolysaccharide [LPS]) 接受器，LPS 可藉由 LPS 結合蛋白 (LPS binding protein)、髓樣分化蛋白-2 (myeloid differentiation protein-2) 及 CD14 與 TLR4 結合，進而活化細胞內核心因子 Kappa B (nuclear factor- κ B [NF- κ B]) 訊息傳導路徑，刺激更多前發炎細胞激素的釋放 [37]。在加拿大的一項病例對照研究中發現，TLR4 Asp299Gly 與 Thr399Ile 基因與僵直性脊椎炎發病具有相關性 [29]；然而，並未在英國的僵直性脊椎炎病患中發現如此的結果 [38]。有趣的是，在西班牙的僵直性脊椎炎病患中，腫瘤壞死因子- α (tumor necrosis factor- α [TNF- α]) 促進子區域-238A 對偶基因可能會影響 HLA-B27 陰性的病患之發病，而不影響到 HLA-B27 陽性的病患之發病 [30]，而此差異可能與患者體內致關節炎細菌存活相關。已知 TNF- α -238A 對偶基因是相對於較低的 TNF- α 濃度表現 [39]，並且 TNF- α 的低表現量可貢獻於類風濕性關節炎病患體內致關節炎細菌的存活，而致關節炎細菌的存活使 HLA-B27 表現量降低。因此，較低的 TNF- α 表現可能造成 HLA-B27 陰性的僵直性脊椎炎患者體內致關節發炎細菌表現，因而導致 HLA-B27 陰性的僵直性脊椎炎患者發病。

3.6 細菌

細菌感染常常使得 HLA-B27 陽性攜帶者發病或已發病的人惡化，可能原因是有些細菌如克雷白氏肺炎菌 (*Klebsiella pneumoniae*)、鼠疫桿菌及痢疾桿菌的抗原片段結構上的氨基酸序列與 HLA-B27 結構上的凹槽有相似之處 [24]，進而免疫系統辨識正常細胞上的 HLA-B27 為入侵者，導致 CD8⁺ 毒殺性 T 細胞誤認而攻擊，因此引發自體免疫疾病 [31]，此即為分子相似學說 (molecular mimicry theory)。此外，外來的細菌侵入體內後，在關節等處會留下細菌的片段或代謝產物，這些抗原片段會與 HLA-B27

結合形成 CD8⁺ 毒殺性 T 細胞或是自體抗體攻擊的複合體 [32]，此為致關節炎抗原學說 (arthritogenic peptide theory)，但是這些學說仍然需要驗證。而 HLA-B27 也可能在組裝的過程中發生摺疊錯誤，致使蛋白分子立體結構改變而容易與細菌抗原片段結合形成複合體，這些複合體經自體免疫系統誤認而引發細胞發炎，導致脊椎性關節病變 [33]。綜言之，細菌感染可能是僵直性脊椎炎致病原因之一。

第四節 疾病自然史

早在 1950 年代時，Blumberg 與 Ragan [40] 以及 Wilkinson 與 Bywaters [41] 已經針對僵直性脊椎炎的疾病自然史作出描述，他們發現：(1) 僵直性脊椎炎的發生與開始通常是隱伏的 (insidious)。(2) 疾病症狀會有惡化與紓解之改變。(3) 患者脊椎關節活動受限與畸形的情形會日益嚴重。(4) 如果病患的周邊關節同時也被侵犯，僵直性脊椎炎症狀發生的時間將會提前。(5) 相較於其他關節外症狀，病患出現虹彩炎症狀的年齡較早，並且會不斷地反覆發作。(6) 若患者的症狀開始發生於 16 歲之前，其患者的疾病狀況則較為嚴重。(7) 女性患者相較於男性患者具有較輕微的疾病嚴重程度。

近年來亦有一些相關於僵直性脊椎炎疾病自然史的文獻陸續發表。先前的橫斷式研究發現 [11]，首次症狀發病年齡在 21 歲以前的僵直性脊椎炎患者相較於首次症狀發病年齡為 30 歲以上者，具有顯著較高的巴斯僵直性脊椎炎放射指數 (BASRI) 以及較低的巴斯僵直性脊椎炎疾病活性指數 (BASDAI)；首次症狀發病年齡亦與患者髖關節病變及疾病活動程度相關，而未與疾病的嚴重程度相關。因此，研究者推論患者疾病的發病年齡可能與遺傳負荷效應相關 [11]，發病年齡較早者相較於發病年齡較晚者可能在遺傳上攜帶較多的易感受性基因因子，因而容易較早發作；然而，發病較早者即使攜帶較多的易感受性基因也並不會影響其疾病的嚴重程度。一項在芬蘭納入 86 名僵直性脊椎炎與其他血清陰性脊椎關節病變患者所進行的三年追蹤研究 [42]，發現儘管病患在接受治療，其身體功能仍然隨著時間的進展而惡化，不論是在巴斯僵直性脊椎炎功能量表 (Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index [BASFI]) 或是道格拉斯身體功能量表 (Dougados Functional Index) 中的結果皆相同；但是難以釐清是否有藥物或其他干擾因子之效應所影響。另一項於英國皇家國立風濕病醫院所執行的 74 名僵直性脊椎炎病患之醫院世代研究 [43]，平均每名患者追蹤約 4 年，觀察到病患平均每年疾病活動程度 (BASDAI) 是增加 0.06 cm，身體功能 (BASFI) 則是每年損失 1.26 cm。所以，研究者認為疾病情況較為嚴重的患者其疾病活動程度會相對地維持一致，不過身體功能卻是隨著時間的進展而緩慢地耗損；而周邊關節炎、虹彩炎與發病年齡較晚可能是患者功能耗損的一項指標。進一步地，研究者運用逐步線性迴歸模式尋找預測 BASDAI 以及 BASFI 每年曲線下面積 (area under the curve per year [AUC/yr]) 變化之變項，結果顯示初次的 BASDAI 與 BASFI 分數為預測僵直性脊椎炎病患疾病病程較良好之變項 [43]。總結而言，目前的研究已經指出僵直性脊椎炎病患的疾病活動程度、身體功能會隨著時間的進展而嚴重或耗損；此外，性別、首次症狀發病年齡、髖關節疾病、周邊關節炎與虹彩炎，以及抽菸、運動習慣亦可能會影響僵直性脊椎炎病程之日後發展。

第五節 僵直性脊椎炎評估量表

放射學檢查常被認為是僵直性脊椎炎診斷的黃金標準，但其相對的缺點為所呈現的疾病狀況可能僅有一種方向，因為僵直性脊椎炎病患的放射學型態可能無法獲得改善，只能趨向於惡化；此外，放射學檢查所指的惡化亦可能並非為真實疾病病程的變化，而是體內正在進行修復之動作 [44]。因此，另一項評估病患疾病狀態的工具—巴斯僵直性脊椎炎疾病活動量表 (BASDAI) 即被發展 [45]；而使用 BASDAI 量表作為評估病患疾病活動程度之研究也日益增加。BASDAI 量表也被建議可以被廣泛地應用在評估患者是否需要服用藥物，與監測藥物治療之成效 [46]；此外，研究者亦定義 BASDAI 量表分數 4 cm 是能夠區別病患目前的疾病活動情形，但此結果僅是依據專家觀點所訂立。法國 Cohen 等人 [47] 收集了 485 名血清陰性脊椎關節病變患者的資料進行接受者操作特徵曲線 (receiver operating characteristic curve [ROC curve]) 分析；ROC 曲線是種直接且自然的分析方法，可用於評估執行診斷決策之成本及效益 [48]。Cohen 等人 [47] 以病患自覺症狀紓解與否作為判定患者目前是否處於疾病活動期之依據，以評估 BASDAI 量表之最佳切點；結果顯示將 BASDAI 量表切點分數定義在 3.9 cm，似乎能夠有效地劃分病患目前是否處於疾病活動期，並且男性及女性患者應該使用不同的 BASDAI 切點。

受限的脊椎活動度是僵直性脊椎炎患者的主要症狀，因此，受限的脊椎活動度評估被使用於協助判定僵直性脊椎炎患者及預測其臨床結果 [49]。此外，疲累亦常為僵直性脊椎炎患者的主訴之一 [50,

51]; 原先的研究已經顯示患者的疲累與其日常生活機能受限 [51, 52]、疼痛與僵硬 [53] 及整體的身心健康 [54] 具有相關性。因此, 近年來部分有效的工具被發展以評估患者的身心機能及殘疾, 如巴斯僵直性脊椎炎疾病活動量表 (BASDAI) [45] 及巴斯僵直性脊椎炎功能量表 (BASFI) [50]; 此外, 巴斯僵直性脊椎炎整體評分 (Bath Ankylosing Spondylitis Global Score [BAS-G]) 也被建立來評估患者整體的身心舒適狀態 [54]。這些問卷均可以由患者快速且容易地完成, 並且在評估臨床症狀的變化上有很好的再現性 (reproducibility)、效度 (validity) 及敏感度 (sensitivity); 問卷內容也涵蓋僵直性脊椎炎病患的整體症狀, 如疲累、疼痛、腫脹、晨間僵硬的現象。Claudepierre 等人 [55] 指出, 性別、病程長短、有無薦腸關節炎以及每週外食次數是與血清陰性脊椎關節病變患者之 BASDAI 分數具有顯著的相關性。Ward 等人 [56] 也觀察到, 終生職業身體活動、抽菸習慣及合併多種併發症是與僵直性脊椎炎患者的 BASFI 分數呈現顯著的正相關; 而教育程度與僵直性脊椎炎家族史則是與 BASFI 分數呈現顯著的負相關。因此, 病患的個人特質、疾病病程的長短或是疾病相關併發症皆有可能會影響病患僵直性脊椎炎評估量表之分數以及病患的預後情形。

第六節 理學檢查與血液生化指標

除了病患的評估問卷外, 臨床與實驗室評估亦被應用於僵直性脊椎炎病患的診斷檢查上。僵直性脊椎炎國際評估團隊 (the Assessment in AS international group [ASAS]) 已經建議脊椎活動度可作為此類患者臨床檢查的主要評估項目 [49]。因此, 多樣的脊椎活動度測量已被發展, 包括枕骨至牆壁距離 (occiput-to-wall distance)、指尖離地距離 (fingertip-to-floor distance)、腰椎彎曲試驗 (Schober test)、側向彎曲試驗 (left lateral bending test) 與胸部擴張試驗 (chest expansion) 等理學檢查。先前研究探討影響僵直性脊椎炎患者身體功能與殘疾的相關因子 [57], 發現指尖離地距離、年齡、身高減少、延誤確診、髖關節置換、性別 (女性)、暴露於冷與潮濕的環境、規律參加僵直性脊椎炎團體運動等因素與 BASFI 量表分數具有顯著的正相關; 而頸椎轉動 (cervical rotation)、胸部擴張程度、病程 (自症狀開始)、身高、規律運動則與 BASFI 量表分數呈現顯著的負相關; 然而, 此研究為橫斷式的研究設計, 在解釋結果的因果關係及效應相關性上可能具有偏差; 仍然需要有長期的追蹤研究去進一步地探討。

僵直性脊椎炎國際評估團隊 (ASAS) 亦認為執行急性期反應物 (acute phase reactant) 之評估, 像是紅血球沈降速率 (ESR) 與 C-反應蛋白 (CRP), 對於病患使用藥物治療之疾病控制情形是項重要的指標 [58]。一項於美國納入 22 名僵直性脊椎炎患者與 22 名萊特氏症候群患者的橫斷式研究, 進行 ESR、CRP 與疾病活動程度之間關係的評估; 結果發現 CRP 相較於 ESR 是較能正確且敏感地反應出患者的疾病活動程度 [59]。Spoorenberg 等人 [60] 則是以 ROC 曲線分析探討 ESR、CRP 與僵直性脊椎炎患者疾病活動程度之關係, 研究又將疾病活動程度的評估區分為醫師評估、病患自評與 BASDAI 量表, 結果則發現 ESR 與 CRP 對於醫師所評估的疾病活動程度分數, 其敏感度皆高達 100%, 特異度介於 70% 至 84% 間; 而對於病患自評分數與 BASDAI 量表分數之敏感度則介於 44% 至 78% 間, 其特異度介於 44% 至 83%。然而, 不論為醫師評估、病患自評或是 BASDAI 量表, 其 CRP 及 ESR 的陽性預測值在此研究中皆是偏低的 (15%-69%); 因此, 研究者建議 ESR 與 CRP 可能並非是測量僵直性脊椎炎患者其疾病活動程度的良好指標, 此外也建議應有長期的追蹤研究來確認此結果。

第七節 骨骼重塑 (bone remodeling) 與脊椎關節疾病之相關性

早期的脊椎骨質流失可能是辨別僵直性脊椎炎的症狀之一 [61], 而骨質減少是蝕骨細胞與成骨細胞態勢失衡的現象。蝕骨細胞是由單核球細胞 (monocyte) 及巨噬細胞 (macrophage) 所衍生的多核細胞, 當蝕骨細胞為前驅細胞時, 成骨細胞會分泌巨噬細胞群落刺激因子 (macrophage-colony stimulating factor [M-CSF]), 而 M-CSF 會與蝕骨細胞前驅細胞膜上的接收器結合; 同時成骨細胞膜上的細胞核因子 kB 配位體接受器活化因子 (RANKL) 會與蝕骨前驅細胞膜上的細胞核因子 kB 接受器活化因子 (RANK) 結合, 在此兩者共同作用下, 蝕骨前驅細胞分化為單核蝕骨細胞。在合成具活性之多核蝕骨細胞初期時, M-CSF 會使巨噬細胞前趨物增生且分化為不具活性的單核蝕骨前驅細胞; 此時若有 M-CSF 與 RANKL 存在, 則此不具活性的前驅細胞會分化為具活性的單核蝕骨細胞。進一步地, 在 M-CSF、RANKL、RANK 與 IL-1 共同作用下, 具活性之單核蝕骨細胞會融合為具活性之多核蝕骨細胞 [62]。當成骨細胞分泌出 M-CSF 時, 亦會分泌出蝕骨細胞抑制因子 (osteoprotegerin [OPG]); 當 OPG 大量表現時, OPG 會和蝕骨前驅細胞上的 RANK 競爭與成骨細胞上的 RANKL 結合, 進而抑制蝕骨細

胞活化 [63]。一般而言，成骨細胞的作用會和蝕骨細胞的作用形成一個動態平衡；失衡時都會造成骨質的不正常。當蝕骨細胞的作用大於成骨細胞作用時，就會造成骨質的損壞和流失 [64]。因此，RANKL/RANK/OPG 模式在骨骼重塑中可能扮演著關鍵的角色。

Franck 等人 [65] 觀察到僵直性脊椎炎病患之髖關節與股骨頸 (femoral neck) 的骨質密度、血清 OPG 濃度相較於健康對照有顯著較低的表現，並且有較高的發炎指標 (CRP 與 ESR) 及骨蝕標記 (尿液中的比林二酚胺 [pyridinoline] 及去氧比林二酚胺 [deoxypyridinoline]) 表現。Kim 等人 [66] 也發現，僵直性脊椎炎患者之股骨頸的骨質密度與疾病活動程度指標 (BASDAI、BASFI 與 BAS-G)、CRP 及 ESR 呈現負相關，病患血清中 sRANKL 及 sRANKL/OPG 比率相較於健康對照也有較高的趨勢，並且與骨質密度下降及放射學檢查結果的發炎嚴重度增加具有相關。因此，骨質密度改變、RANKL 及 OPG 表現可能與僵直性脊椎炎之疾病機制具有關聯。先前研究在類風濕性關節炎患者中，亦發現 RANKL 蛋白與 RANK 表現的蝕骨前趨細胞皆高度表現於蝕骨細胞侵蝕的血管翳與骨頭界面與軟骨下硬骨侵蝕部位 [67]，而且 RANKL mRNA/OPG mRNA 比率在類風濕性關節炎之關節組織中與蝕骨細胞形成具有相關性 [68]；相反地，OPG 蛋白的表現在發生骨蝕作用的滑膜組織則受到限制，尤其是在 RANKL 大量表現的關節發炎部位 [67, 68]。因此，RANKL 及 RANK 與骨蝕作用具有正向相關，並且 RANKL 及 RANK 可能與發炎細胞激素產生交互作用，而促進疾病之發展；相反地，OPG 在骨蝕作用的表現可能扮演保護的角色。

而骨骼重塑的評估則可量測在血中的骨質生成標記，包括骨特異之鹼性磷酸酶 (bone-specific alkaline phosphatase) [69] 及骨鈣素 (osteocalcin) [70]，以及骨骼再吸收標記，如血清中的第一型膠原蛋白 (type I collagen telopeptides；N-telopeptide [NTX]) 濃度 [71]；而這些標記的濃度變化可能可以幫助我們辨識到僵直性脊椎炎病患之骨骼再建構之改變。

第八節 RANKL、RANK 與 OPG 基因多形性

人類 RANKL 基因位於染色體 13q14，此基因 5' 端未轉錄區域的 rs9594782 位置有一個 T 至 C 的鹼基置換，攜帶 TC 與 CC 基因型的華人男性相較於攜帶 TT 基因型者，其髖關節及全身骨質具有 2.1 倍的低骨質密度危險性；然而，此變異點為 RANKL 基因的次要等位基因頻率 (minor allele frequency) 僅為 0.07 [72]。Wu 等人 [73] 研究血清陽性類風濕性關節炎發現，於 rs922966 位置上攜帶 RANKL CC 基因型的患者相較於攜帶 CT 與 TT 基因型者有較早的發病年齡；然而，此基因多形性並未與疾病發生具有相關性。此外，於 rs2296533、rs2277438、rs2277439、rs3742258、rs9562415、rs9567000 與 rs1054016 位置的 RANKL 基因多形性，也並未與日本人之侵犯型牙周炎 (aggressive periodontitis) 的發生具有相關性 [74]。另一方面，RANKL rs2277438 與 rs2277439 位置上之基因多形性則與日本人之類風濕性關節炎患者的關節損傷具有顯著相關性；然而，此研究受限於樣本數過少，並且評估類風濕性關節炎發展的方法具有較低的敏感度，可能增加發生第一型誤差的機率。在 RANKL 基因促進子的核甘-290 (rs9525641) 位置有一個 C 至 T 的鹼基置換，雖然此位置之變異對於 RANKL 蛋白質功能的影響目前是未知的 [75]；而此單一核甘酸多形性位置在 RANKL 促進子區域，因此 RANKL C-290T 的變異可能會影響 RANKL 的表現。Mencej 等人 [75] 於 115 名斯洛維尼亞停經後婦女中觀察到，攜帶 RANKL -290 CC 基因型者相較於攜帶 TT 基因型者有顯著較低的大腿股骨頸區域骨質密度。在斯洛維尼亞的停經後婦女中之 RANKL C-290T CC、CT 及 TT 基因型頻率依序為 27.8%、43.5% 及 28.7%；目前華人並無此基因頻率的報告。RANKL 在成骨細胞的形成及活化扮演著關鍵的角色；然而，RANKL 基因多形性與發炎性脊椎關節相關疾病之相關性尚未被探討。

人類 RANK 基因位於染色體 18q22.1，其 exon 6 核甘酸 575 (rs1805034) 處有個 C 至 T 的鹼基置換；導致在密碼子 2 的位置發生由纈氨酸 (valine) 改變成丙氨酸 (alanine)。而此變異 (V192A) 是 RANK 基因上目前唯一已知的單一核甘酸變異 [72]，並且被相信在 RANK 外細胞區域會譯碼出一段 predicted cysteine-rich pseudorepeat 區域 [76]；但是，此改變對於蛋白功能之影響是未知的。此基因多形性在華人之 T 對偶基因頻率為 0.68 [72]，在英國人中則僅為 0.18 [77]。Malik 等人 [77] 研究髖關節置換術失敗 (hip arthroplasty failure) 與 RANK 基因多形性之相關，發現 Ala 氨基酸產生的 RANK 蛋白與無菌性失敗 (aseptic failure) 及敗血性失敗 (septic failure) 二者引起的骨溶解 (osteolysis) 作用具有相關。RANK 575 TT 基因多形性也在韓國更年期後之婦女中，被發現相關於較低之骨質密度 [78]。在華人男

性族群中則觀察到攜帶 RANK 575 CT 基因型的個體較不易具有較低的髖關節骨質密度；推論攜帶 RANK 575 CT 基因型的個體在骨質流失上具有不易流失之優勢存在，即異型合子優勢現象 (heterozygous advantage) [72]。然而，目前尚未有研究探討僵直性脊椎炎與 RANK 基因之相關。

人類 OPG 基因位於染色體 8q24，其 exon 1 的第 1181 個核苷酸位置 (rs2073618) 包含一個 G 至 C 的鹼基置換，導致訊息胜肽在第三個氨基酸由離氨酸 (Lys) 改變成天門冬素 (Asn) [79]；進而導致 OPG 訊息胜肽特性有所改變，但是此改變所造成的影響是未知的 [74]。OPG 的訊息序列 (signal peptide) 具有影響細胞分泌 OPG 蛋白的功能，在此序列上第 1181 個核苷酸位置的 G 至 C 的鹼基置換是唯一的非同義 (nonsynonymous) 的置換。Arko 等人 [80] 指出，OPG 第三個氨基酸由 Lys 改變成 Asn 可能會影響先驅蛋白到內質網的標定和運輸以及訊息胜肽的移動；推論 Asn 產生的 OPG 蛋白具有較高的活性，可能會增加與 RANKL 的結合，反之 Lys 產生的蛋白會降低與 RANKL 的結合，導致蝕骨細胞大量增生。Choi 等人 [78] 則指出，OPG A163G 基因多形性與骨質密度並無相關；然而，攜帶 OPG 1181CC 基因型的停經後婦女相較於攜帶 GG 基因型者在橈骨末梢 (distal radius) 有高出 7% 的骨質密度，在跟骨 (calcaneus) 有高出 10% 的骨質密度。Wynne 等人 [81] 也指出，無論是未停經或停經後的愛爾蘭婦女其骨質密度與 OPG T950C 基因多形性並無相關，而相關於 OPG G1181C 基因型。Arko 等人 [80] 也並未發現 OPG C1217T、G1284A、C4501T、A6893G、A6950C、T8738A 及 4752_4753delCT 與停經後婦女的骨質密度之相關性，而僅攜帶 OPG 1181GG 基因型者相較於攜帶 OPG 1181GC 基因型者其腰脊骨有顯著較低的骨質密度。先前的研究顯示，停經後的婦女相較於未停經者有較低的骨質密度，且停經後婦女在 OPG 第 1181 個核苷酸位置上有較高的 GG 基因型比例 [77, 82]，可推論出攜帶 GG 基因型者與較低的骨質密度有相關。此基因多形性在華人及日本人中，Asn 對偶基因頻率分別為 26% 及 28% [79]，而具有 Asn 氨基酸構造所轉譯出的蛋白在個體的骨質改變上可能具有保護效應；因此，值得探討 OPG G1181C 基因多形性與僵直性脊椎炎之相關。

第九節 自體免疫耐受性 (immunological self-tolerance)

自體免疫耐受性為免疫系統透過 T 細胞接受器 (T cell receptor [TCR]) 與 B 細胞接受器 (B cell receptor [BCR]) 上不同區域基因序列之重組，而發展出預防自體反應淋巴球產生功能的機制；包含了中央耐受性 (central tolerance) 與周邊耐受性 (peripheral tolerance)。中央耐受性是指自體抗原 T 細胞與 B 細胞在胸腺及骨髓中會自然淘汰，而周邊耐受性則是透過複製缺失 (clonal deletion) 及複製無能 (clonal anergy) 對胸腺及骨髓中自體反應複製物 (autoreactive clones) 進行負調節 [83]。淋巴細胞的活化除了需要 TCR 或 BCR 與抗原呈現細胞 (antigen presenting cell [APC]) 表面的 MHC 結合所產生之抗原特異性訊號外，還需要 T 細胞與 B 細胞上所表現之共刺激 (costimulatory) 接受器 CD28 及 CD40，與其結合物 B7-1 (CD80) 及 B7-2 (CD86) 作用所產生之共刺激訊號 [84, 85]。而 APC 表面的 B7-1 與活化 T 細胞表面的計畫性細胞死亡-1 配位基-1 (programmed cell death 1 ligands-1 [PD-L1]) 可鍵結以產生抑制訊息，來對於活化 T 細胞所產生之共刺激訊號進行負調節 [86]。活化 T 細胞上的計畫性細胞死亡-1 (programmed cell death 1 [PD-1]) 與 PD-L1 結合亦可對於活化 T 細胞傳遞抑制訊息 [84]。先前研究觀察到抑制樹突細胞上的 PD-L1 及 PD-L2，會使 T 細胞不斷地活化及增生，此過度反應可能導致自體免疫疾病的發生 [87]。在阻斷 PD-L1 的 NOD 小鼠中可發現自體免疫糖尿病的發生 [88]，而在阻斷 PD-L2 的 C57BL/6 品系小鼠中，亦表現出實驗性自體免疫腦脊髓炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis) 的症狀趨向嚴重 [89]。因此，阻斷 PD-1 及其配位基的交互作用可能與自體免疫疾病的發展具有相關。特別的是，CD4⁺ 及 CD8⁺ T 細胞在僵直性脊椎炎患者中也有較高的表現 [90]。在 HLA-B27 基因轉殖鼠中發現，HLA-B27 的摺疊錯誤可被 CD4⁺ T 細胞的接受器辨識 [91]，進而刺激 CD4⁺ T 細胞或是自然殺手細胞 (natural killer cell) 過度活化 [92]；因此，HLA-B27 可能在免疫過程中擔任著自體抗原的角色，並且 CD4⁺ T 細胞的活化路徑也可能影響僵直性脊椎炎的發病過程。

此外，第四類細胞毒殺性 T 淋巴抗原 (cytotoxic T lymphocyte antigen-4 [CTLA-4]) 相較 CD28 與 B7 的結合具有 10 倍的親和力 [93]。因此，CTLA-4 與 B7-1 及 B7-2 結合，可對於 CD28 作用於活化 T 細胞所產生之共刺激訊號進行負調節 [94]；並且，CTLA-4 在自體免疫耐受性的初期扮演著迅速抑制過度活化 T 細胞的角色，而 PD-1 與 PD-L1 和 PD-L2 鍵結的抑制訊息可作用在免疫耐受性的晚期及後續之平衡的維持 [86, 95]。活化 T 細胞近膜端 (membrane-proximal) 的蛋白酪氨酸磷酸酶 (protein tyrosine kinases [PTKs]) [96]、蛋白酪氨酸激酶 (protein tyrosine phosphatases [PTPs]) [97] 與接合分子

(adapter molecules) [98] 之間的交互作用也可能會調節 T 細胞的活化。蛋白酪氨酸激酶家族具有調控蛋白酪氨酸磷酸酶的磷酸化 (phosphorylation) 作用，蛋白酪氨酸磷酸酶 (PTKs) 中的 Src 家族磷酸化具有正向調節 TCR 的訊息傳遞 [99]，進而使胸腺細胞 (thymocytes) 活化為成熟的 T 細胞；除了磷酸化的作用外，蛋白酪氨酸激酶家族部分成員也具有去磷酸化 (dephosphorylation) 的作用，淋巴酪氨酸磷酸酶 (lymphoid tyrosine phosphatase [LYP]) 具有將蛋白酪氨酸磷酸酶 (PTKs) 去磷酸化的作用，進一步向 TCR 傳遞負向的調控訊息 [99]。淋巴酪氨酸磷酸酶 (LYP) 其蛋白的 N 端上有酪氨酸磷酸化區域 (tyrosine phosphatase domain)，在 C 端上有四個富含脯氨酸的基序 (proline-rich motif) [100]；此外，LYP 可以獨立或與不同種類的接合分子結合以負向調控 T 細胞的活化 [99]。因此，CTLA-4 與 LYP 無論是個別獨立或是彼此交互作用在活化 T 細胞的抑制訊息傳遞路徑中均扮演關鍵的角色。

第十節 PD-1、PD-L1 與 PD-L2 基因多形性

人類 PD-1 基因位於染色體 2q37，其促進子轉譯起始位置的核苷-536 (rs36084323) 包含一個 G 至 A 的鹼基置換 [101]；PD-1 G-536A 可能會影響 PD-1 蛋白的功能性，並且影響免疫反應對抗環境中自體免疫疾病發生的因子，如病毒感染 [102]。此單一核苷酸多形性之 A 對偶基因頻率在華人及日本人中為 49-55% [101, 103, 104]；相對地，在歐洲人及非洲人中是稀少的，分別為 1% 及 4% [105]。重要的是，PD-1 基因是否為僵直性脊椎炎的易感受性因子是不清楚的。人類 PD-L1 基因位於染色體 9p24，此基因在 intron 4 核苷酸 8923 (rs1970000) 處有個 A 至 C 的鹼基置換，此處位於轉錄因子結合位置 (transcriptional factor binding sites) 上 [84]，可能修飾轉錄因子的親和力。在日本人中，PD-L1 A8923C 之 C 對偶基因頻率為 3.1% [106]；華人則無此基因頻率的報告。先前的研究探討日本葛瑞夫茲氏病 (Graves' disease) 與 PD-L1 A8923C 基因多形性之相關，發現攜帶 C 對偶基因者相較於攜帶 A 對偶基因者具有 2.79 倍疾病發生危險 [106]。Wang 等人 [107, 108] 探討台灣人 PD-L1 C6777G 基因多形性，則未發現此多形性與類風濕性關節炎以及系統性紅斑性狼瘡 (system lupus erythematosus) 發生之關係。人類 PD-L2 基因位於染色體 9p24.2，此基因在 exon 5 核苷酸 47103 (rs7854303) 的位置有個 C 至 T 的鹼基置換；PD-L2 47103C 對偶基因在穿膜區域 (transmembrane domain) 會轉譯出絲氨酸 (serine)，而 PD-L2 47103T 對偶基因則轉譯出苯丙氨酸 (phenylalanine) [108]。而穿膜區域對於細胞表面的二聚體化 (dimerization) 和低聚合反應 (oligomerization) 扮演著關鍵的角色 [109]，二聚體化與低聚合作用會引起細胞內蛋白結構區域發生結構的改變，使蛋白功能產生變化。PD-L2 C 對偶基因產生的蛋白可能無法勝任與 PD-1 間的抑制訊息傳遞，而導致免疫反應過度增生；而此單一核苷酸多形性在台灣人之 C 對偶基因頻率為 79.2% [107]。有趣的是，PD-L1 A8923C 及 PD-L2 C47103T 基因多形性可能影響與 PD-1 之結合，進一步地影響個體免疫耐受性之平衡。因此，我們將評估 PD-1 G-536A、PD-L1 A8923C 及 PD-L2 C47103T 基因多形性與僵直性脊椎炎的相關。

第十一節 CTLA-4 與 PTPN22 基因多形性

人類 CTLA-4 基因位於染色體 2q33，在核苷酸+49 處有個 A 至 G 的鹼基置換 (rs231775)，導致胺基酸由息寧胺酸 (threonine) 變異成胺基丙酸 (alanine)，此變異是 CTLA-4 基因唯一已知的單一核苷酸變異 [110]，可影響 CTLA-4 在粒線體的表現；並且 G 對偶基因表現的 CTLA-4 蛋白相較於 A 對偶基因表現的蛋白會降低 66.7% 的抑制活化 T 細胞能力 [111]。此基因多形性在華人的 A 對偶基因頻率是 40.6%-60.8% [112-114]，統合分析 (meta-analysis) 研究也指出 CTLA-4 A+49G 基因多形性與多種自體免疫疾病具有相關性，包含類風濕性關節炎 [114]、第一型糖尿病 [115] 和紅斑性狼瘡 [116]；然而，此基因多形性在僵直性脊椎炎發生之效應則尚未被釐清。

蛋白質酪氨酸磷酸酶 N22 (protein tyrosine phosphatase, nonreceptor 22 [PTPN22]) 基因位於染色體 1p13，可轉譯成淋巴酪氨酸磷酸酶 (LYP) [100]，並藉由訊息傳遞路徑調控過度增生的 T 細胞。在促進子的-1123 處有個 G 至 C 的鹼基置換 (rs2488457)，Kawasaki 等人 [117] 指出，PTPN22 G-1123C 位於轉錄因子激活蛋白-4 (activator protein-4 [AP-4]) 的接合位置序列的關鍵處 (⁻¹¹³⁰gcaaGCTG⁻¹¹²¹)；而 AP-4 會藉由與對稱序列 CAGCTG 結合，調控基因的啟動子區域，進而影響 mRNA 表現 [118]。因此，我們推論攜帶 PTPN22 -1123C 對偶基因者可能無法與轉錄因子結合，進而影響 LYP 蛋白的表現，導致自體免疫疾病發生。此單一核苷酸多形性在日本人的 C 對偶基因頻率是 43.5% [117]，在捷克人與挪威人的 C 對偶基因頻率分別是 21.1% [119] 與 21.3% [120]。挪威人之 PTPN22 G-1123C 基因多形性與類

風濕關節炎的發生危險有一個劑量效應 [120]；而攜帶 PTPN22 -1123C 對偶基因型的捷克人有顯著的第一型糖尿病與幼年特發性關節炎 (juvenile idiopathic arthritis) 發生危險 [119]。PTPN22 +1858T 對偶基因型轉譯的 LYP 無法抑制 T 細胞的活化 [121]，然而，不同華人族群的 PTPN22 1858T +1858T 對偶基因的頻率是 0.009-0.069 [122]，如此低的對偶基因頻率似乎無法來解釋華人之自體免疫疾病的發生。因此，我們有興趣探討 PTPN22 G-1123C 基因多形性與僵直性脊椎炎發生之相關。

參考文獻

1. Masi AT. Walsh EG. Ankylosing spondylitis: integrated clinical and physiological perspectives. *Clin Exp Rheumatol.* 21:1-8, 2003.
2. Vaughan JH. 1992 Joseph J. Bunim Lecture. Pathogenetic concepts and origins of rheumatoid factor in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 36:1-6, 1993.
3. Boonen A. van der Heijde D. Landewe R. et al. Costs of ankylosing spondylitis in three European countries: the patient's perspective. *Ann Rheum Dis.* 62:741-7, 2003.
4. Sieper J. Braun J. Rudwaleit M. et al. Ankylosing spondylitis: an overview. *Ann Rheum Dis.* 61(Suppl 3):iii8-18, 2002.
5. Khan MA. Update on spondyloarthropathies. *Ann Intern Med.* 136:896-907, 2002.
6. Pinals RS. Masi AT. Larsen RA. Preliminary criteria for clinical remission in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 24:1308-15, 1981.
7. Kennedy LG. Will R. Calin A. Sex ratio in the spondyloarthropathies and its relationship to phenotypic expression, mode of inheritance and age at onset. *J Rheumatol.* 20:1900-4, 1993.
8. Feldtkeller E. Bruckel J. Khan MA. Scientific contributions of ankylosing spondylitis patient advocacy groups. *Curr Opin Rheumatol.* 12:239-47, 2000.
9. Chou CT. Timms AE. Wei JC. et al. Replication of association of IL1 gene complex members with ankylosing spondylitis in Taiwanese Chinese. *Ann Rheum Dis.* 65:1106-9, 2006.
10. Calin A. Brophy S. Blake D. Impact of sex on inheritance of ankylosing spondylitis: a cohort study. *Lancet.* 354:1687-90, 1999.
11. Brophy S. Calin A. Ankylosing spondylitis: interaction between genes, joints, age at onset, and disease expression. *J Rheumatol.* 28:2283-8, 2001.
12. Olivieri I. van Tubergen A. Salvarani C. et al. Seronegative spondyloarthritides. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 16:723-39, 2002.
13. Khan MA. Epidemiology of HLA-B27 and arthritis. *Clin Rheumatol.* 15 Supplement. 1:10-2, 1996.
14. Khan MA. van der Linden SM. Ankylosing spondylitis and other spondyloarthropathies. *Rheum Dis Clin North Am.* 16:551-79, 1990.
15. Carbone LD. Cooper C. Michet CJ. et al. Ankylosing spondylitis in Rochester, Minnesota, 1935-1989. Is the epidemiology changing?. *Arthritis Rheum.* 35:1476-82, 1992.
16. Gonzalez-Roces S. Alvarez MV. Gonzalez S. et al. HLA-B27 polymorphism and worldwide susceptibility to ankylosing spondylitis. *Tissue Antigens.* 49:116-23, 1997.
17. Hukuda S. Minami M. Saito T. et al. Spondyloarthropathies in Japan: nationwide questionnaire survey performed by the Japan Ankylosing Spondylitis Society. *J Rheumatol.* 28:554-9, 2001.
18. Chalmers IM. Ankylosing spondylitis in African Blacks. *Arthritis Rheum.* 23:1366-70, 1980.
19. Stein M. Davis P. Emmanuel J. et al. The spondyloarthropathies in Zimbabwe: a clinical and immunogenetic profile. *J Rheumatol.* 17:1337-9, 1990.
20. Mijiyawa M. Spondyloarthropathies in patients attending the rheumatology unit of Lome Hospital. *J Rheumatol.* 20:1167-9, 1993.
21. Chou CT. Pei L. Chang DM. et al. Prevalence of rheumatic diseases in Taiwan: a population study of urban, suburban, rural differences. *J Rheumatol.* 21:302-6, 1994.
22. de Blecourt J. Polman A. de Blecourt-Meindersma. Hereditary factors in rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis.* 20:215-20, 1961.
23. Brewerton DA. Hart FD. Nicholls A. et al. Ankylosing spondylitis and HL-A 27. *Lancet.* 1:904-7, 1973.
24. Schwimmbeck PL. Yu DT. Oldstone MB. Autoantibodies to HLA B27 in the sera of HLA B27 patients with ankylosing spondylitis and Reiter's syndrome. Molecular mimicry with *Klebsiella pneumoniae* as potential mechanism of autoimmune disease. *J Exp Med.* 166:173-81, 1987.
25. Khan MA. Ball EJ. Genetic aspects of ankylosing spondylitis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 16:675-90,

2002.

26. Wei JC. Tsai WC. Lin HS. et al. HLA-B60 and B61 are strongly associated with ankylosing spondylitis in HLA-B27-negative Taiwan Chinese patients. *Rheumatology*. 43:839-42, 2004.
27. Jaakkola E. Crane AM. Laiho K. et al. The effect of transforming growth factor beta1 gene polymorphisms in ankylosing spondylitis. *Rheumatology*. 43:32-8, 2004.
28. McGarry F. Neilly J. Anderson N. et al. A polymorphism within the interleukin 1 receptor antagonist (IL-1Ra) gene is associated with ankylosing spondylitis. *Rheumatology*. 40:1359-64, 2001.
29. Snelgrove T. Lim S. Greenwood C. et al. Association of toll-like receptor 4 variants and ankylosing spondylitis: a case-control study. *J Rheumatol*. 34:368-70, 2007.
30. Gonzalez S. Torre-Alonso JC. Martinez-Borra J. et al. TNF-238A promoter polymorphism contributes to susceptibility to ankylosing spondylitis in HLA-B27 negative patients. *J Rheumatol*. 28:1288-93, 2001.
31. Lopez-Larrea C. Gonzalez S. Martinez-Borra J. The role of HLA-B27 polymorphism and molecular mimicry in spondylarthropathy. *Mol Med Today*. 4:540-9, 1998.
32. Ringrose JH. HLA-B27 associated spondyloarthropathy, an autoimmune disease based on crossreactivity between bacteria and HLA-B27?. *Ann Rheum Dis*. 58:598-610, 1999.
33. Mear JP. Schreiber KL. Munz C. et al. Misfolding of HLA-B27 as a result of its B pocket suggests a novel mechanism for its role in susceptibility to spondyloarthropathies. *J Immunol*. 163:6665-70, 1999.
34. Lopez D. Garcia-Hoyo R. Lopez de Castro JA. Clonal analysis of alloreactive T cell responses against the closely related B*2705 and B*2703 subtypes. Implications for HLA-B27 association to spondyloarthropathy. *J Immunol*. 152:5557-71, 1994.
35. Maki-Ikola O. Lehtinen K. Granfors K. Similarly increased serum IgA1 and IgA2 subclass antibody levels against *Klebsiella pneumoniae* bacteria in ankylosing spondylitis patients with/without extra-articular features. *Br J Rheumatol*. 35:125-8, 1996.
36. Colotta F. Re F. Muzio M. et al. Interleukin-1 type II receptor: a decoy target for IL-1 that is regulated by IL-4. *Science*. 261:472-5, 1993.
37. da Silva Correia J. Soldau K. Christen U. et al. Lipopolysaccharide is in close proximity to each of the proteins in its membrane receptor complex. transfer from CD14 to TLR4 and MD-2. *J Biol Chem*. 276:21129-35, 2001.
38. Adam R. Sturrock RD. Gracie JA. TLR4 mutations (Asp299Gly and Thr399Ile) are not associated with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis*. 65:1099-101, 2006.
39. Kaluza W. Reuss E. Grossmann S. et al. Different transcriptional activity and in vitro TNF-alpha production in psoriasis patients carrying the TNF-alpha 238A promoter polymorphism. *J Invest Dermatol*. 114:1180-3, 2000.
40. Blumberg B. Ragan C. The natural history of rheumatoid spondylitis. *Medicine*. 35:1-31, 1956.
41. Wilkinson M. Bywaters EG. Clinical features and course of ankylosing spondylitis; as seen in a follow-up of 222 hospital referred cases. *Ann Rheum Dis*. 17:209-28, 1958.
42. Heikkila S. Viitanen JV. Kautiainen H. et al. Functional long-term changes in patients with spondylarthropathy. *Clin Rheumatol*. 21:119-22, 2002.
43. Robertson LP. Davis MJ. A longitudinal study of disease activity and functional status in a hospital cohort of patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatology*. 43:1565-8, 2004.
44. Calin A. The individual with ankylosing spondylitis: defining disease status and the impact of the illness. *Br J Rheumatol*. 34:663-72, 1995.
45. Garrett S. Jenkinson T. Kennedy LG. et al. A new approach to defining disease status in ankylosing spondylitis: the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index. *J Rheumatol*. 21:2286-91, 1994.
46. Braun J. Pham T. Sieper J. et al. International ASAS consensus statement for the use of anti-tumour necrosis factor agents in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis*. 62:817-24, 2003.
47. Cohen JD. Cunin P. Farrenq V. et al. Estimation of the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index cutoff for perceived symptom relief in patients with spondyloarthropathies. *J Rheumatol*. 33:79-81, 2006.
48. Metz CE. Basic principles of ROC analysis. *Semin Nucl Med*. 8:283-98, 1978.
49. van der Heijde D. Calin A. Dougados M. et al. Selection of instruments in the core set for DC-ART, SMARD, physical therapy, and clinical record keeping in ankylosing spondylitis. Progress report of the ASAS Working Group. Assessments in Ankylosing Spondylitis. *J Rheumatol*. 26:951-4, 1999.
50. Calin A. Edmunds L. Kennedy LG. Fatigue in ankylosing spondylitis--why is it ignored? *J Rheumatol*.

20:991-5, 1993.

51. Jones SD. Koh WH. Steiner A. et al. Fatigue in ankylosing spondylitis: its prevalence and relationship to disease activity, sleep, and other factors. *J Rheumatol.* 23:487-90, 1996.
52. Bellamy N. Muirden KD. Brooks PM. et al. A survey of outcome measurement procedures in routine rheumatology outpatient practice in Australia. *J Rheumatol.* 26:1593-9, 1999.
53. van Tubergen A. Coenen J. Landewe R. et al. Assessment of fatigue in patients with ankylosing spondylitis: a psychometric analysis. *Arthritis Rheum.* 47:8-16, 2002.
54. Jones SD. Steiner A. Garrett SL. et al. The Bath Ankylosing Spondylitis Patient Global Score (BAS-G). *Br J Rheumatol.* 35:66-71, 1996.
55. Claudepierre P. Sibilia J. Roudot-Thoraval F. et al. Factors linked to disease activity in a French cohort of patients with spondyloarthritis. *J Rheumatol.* 25:1927-31, 1998.
56. Ward MM. Weisman MH. Davis JC Jr. et al. Risk factors for functional limitations in patients with long-standing ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum.* 53:710-7, 2005.
57. Falkenbach A. Franke A. van der Linden S. Factors associated with body function and disability in patients with ankylosing spondylitis: a cross-sectional study. *J Rheumatol.* 30:2186-92, 2003.
58. van der Heijde D. Bellamy N. Calin A. et al. Preliminary core sets for endpoints in ankylosing spondylitis. Assessments in Ankylosing Spondylitis Working Group. *J Rheumatol.* 24:2225-9, 1997.
59. Nashel DJ. Petrone DL. Ulmer CC. et al. C-reactive protein: a marker for disease activity in ankylosing spondylitis and Reiter's syndrome. *J Rheumatol.* 13:364-7, 1986.
60. Spoorenberg A. van der Heijde D. de Klerk E. et al. Relative value of erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein in assessment of disease activity in ankylosing spondylitis. *J Rheumatol.* 26:980-4, 1999.
61. Gilgil E. Kacar C. Tuncer T. et al. The association of syndesmophytes with vertebral bone mineral density in patients with ankylosing spondylitis. *J Rheumatol.* 32:292-4, 2005.
62. Yasuda H. Shima N. Nakagawa N. et al. A novel molecular mechanism modulating osteoclast differentiation and function. *Bone.* 25:109-13, 1999.
63. Teitelbaum SL. Ross FP. Genetic regulation of osteoclast development and function. *Nature Rev Genetics.* 4:638-49, 2003.
64. El Maghraoui A. Borderie D. Cherruau B. et al. Osteoporosis, body composition, and bone turnover in ankylosing spondylitis. *J Rheumatol.* 26:2205-9, 1999.
65. Franck H. Meurer T. Hofbauer LC. Evaluation of bone mineral density, hormones, biochemical markers of bone metabolism, and osteoprotegerin serum levels in patients with ankylosing spondylitis. *J Rheumatol.* 31:2236-41, 2004.
66. Kim HR. Kim HY. Lee SH. Elevated serum levels of soluble receptor activator of nuclear factors-kappaB ligand (sRANKL) and reduced bone mineral density in patients with ankylosing spondylitis (AS). *Rheumatology.* 45:1197-200, 2006.
67. Pettit AR. Walsh NC. Manning C. et al. RANKL protein is expressed at the pannus-bone interface at sites of articular bone erosion in rheumatoid arthritis. *Rheumatology.* 45:1068-76, 2006.
68. Haynes DR. Crotti TN. Loric M. et al. Osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor kappaB ligand (RANKL) regulate osteoclast formation by cells in the human rheumatoid arthritic joint. *Rheumatology.* 40:623-30, 2001.
69. Finkelstein JS. Klibanski A. Arnold AL. et al. Prevention of estrogen deficiency-related bone loss with human parathyroid hormone-(1-34): a randomized controlled trial. *JAMA.* 280:1067-73, 1998.
70. Mariconda M. Pavia M. Colonna A. et al. Appendicular bone density, biochemical markers of bone turnover and lifestyle factors in female teachers of Southern Italy. *Eur J Epidemiol.* 13:909-17, 1997.
71. Tsai KS. Hsu SH. Cheng JP. et al. Vitamin D stores of urban women in Taipei: effect on bone density and bone turnover, and seasonal variation. *Bone.* 20:371-4, 1997.
72. Hsu YH. Niu T. Terwedow HA. et al. Variation in genes involved in the RANKL/RANK/OPG bone remodeling pathway are associated with bone mineral density at different skeletal sites in men. *Human Genetics.* 118:568-77, 2006.
73. Wu H. Khanna D. Park G. et al. Interaction between RANKL and HLA-DRB1 genotypes may contribute to younger age at onset of seropositive rheumatoid arthritis in an inception cohort. *Arthritis Rheum.* 50:3093-103, 2004.
74. Soedarsono N. Rabello D. Kamei H. et al. Evaluation of RANK/RANKL/OPG gene polymorphisms in

- aggressive periodontitis. *J Periodontal Res.* 41:397-404, 2006.
75. Mencej S. Prezelj J. Kocijancic A. et al. Association of TNFSF11 gene promoter polymorphisms with bone mineral density in postmenopausal women. *Maturitas.* 55:219-26, 2006.
 76. Wuyts W. Van Wesenbeeck L. Morales-Piga A. et al. Evaluation of the role of RANK and OPG genes in Paget's disease of bone. *Bone.* 28:104-7, 2001.
 77. Malik MH. Bayat A. Jury F. et al. Genetic susceptibility to hip arthroplasty failure--association with the RANK/OPG pathway. *Int Orthop.* 30:177-81, 2006.
 78. Choi JY. Shin A. Park SK. et al. Genetic polymorphisms of OPG, RANK, and ESR1 and bone mineral density in Korean postmenopausal women. *Calcif Tissue Int.* 77:152-9, 2005.
 79. Zhao HY. Liu JM. Ning G. et al. The influence of Lys3Asn polymorphism in the osteoprotegerin gene on bone mineral density in Chinese postmenopausal women. *Osteoporos Int.* 16:1519-24, 2005.
 80. Arko B. Prezelj J. Kocijancic A. et al. Association of the osteoprotegerin gene polymorphisms with bone mineral density in postmenopausal women. *Maturitas.* 51:270-9, 2005.
 81. Wynne F. Drummond F. O'Sullivan K. et al. Investigation of the genetic influence of the OPG, VDR (Fok1), and COLIA1 Sp1 polymorphisms on BMD in the Irish population. *Calcif Tissue Int.* 71:26-35, 2002.
 82. Langdahl BL. Carstens M. Stenkjaer L. et al. Polymorphisms in the osteoprotegerin gene are associated with osteoporotic fractures. *J Bone Miner Res.* 17:1245-55, 2002.
 83. Nishimura H. Honjo T. PD-1: an inhibitory immunoreceptor involved in peripheral tolerance. *Trends Immunol.* 22:265-8, 2001.
 84. Keir ME. Butte MJ. Freeman GJ. et al. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol.* 26:677-704, 2008.
 85. Sharpe AH. Freeman GJ. The B7-CD28 superfamily. *Nat Rev Immunol.* 2:116-26, 2002.
 86. Butte MJ. Keir ME. Phamduy TB. et al. Programmed death-1 ligand 1 interacts specifically with the B7-1 costimulatory molecule to inhibit T cell responses. *Immunity.* 27:111-22, 2007.
 87. Brown JA. Dorfman DM. Ma FR. et al. Blockade of programmed death-1 ligands on dendritic cells enhances T cell activation and cytokine production. *J Immunol.* 170:1257-66, 2003.
 88. Ansari MJ. Salama AD. Chitnis T. et al. The programmed death-1 (PD-1) pathway regulates autoimmune diabetes in nonobese diabetic (NOD) mice. *J Exp Med.* 198:63-9, 2003.
 89. Salama AD. Chitnis T. Imitola J. et al. Critical role of the programmed death-1 (PD-1) pathway in regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Exp Med.* 198:71-8, 2003.
 90. Duftner C. Goldberger C. Falkenbach A. et al. Prevalence, clinical relevance and characterization of circulating cytotoxic CD4+CD28- T cells in ankylosing spondylitis. *Arthritis Res Ther.* 5:R292-300, 2003.
 91. Boyle LH. Goodall JC. Opat SS. et al. The recognition of HLA-B27 by human CD4(+) T lymphocytes. *J Immunol.* 167:2619-24, 2001.
 92. Bird LA. Peh CA. Kollnberger S. et al. Lymphoblastoid cells express HLA-B27 homodimers both intracellularly and at the cell surface following endosomal recycling. *Eur J Immunol.* 33:748-59, 2003.
 93. van der Merwe PA. Bodian DL. Daenke S. et al. CD80 (B7-1) binds both CD28 and CTLA-4 with a low affinity and very fast kinetics. *J Exp Med.* 185:393-403, 1997.
 94. Berg M. Zavazava N. Regulation of CD28 expression on CD8+ T cells by CTLA-4. *J Leukoc Biol.* 83:853-63, 2008.
 95. Fife BT. Bluestone JA. Control of peripheral T-cell tolerance and autoimmunity via the CTLA-4 and PD-1 pathways. *Immunol Rev.* 224:166-82, 2008.
 96. Weiss A. Littman DR. Signal transduction by lymphocyte antigen receptors. *Cell.* 76:263-74, 1994.
 97. Li L. Dixon JE. Form, function, and regulation of protein tyrosine phosphatases and their involvement in human diseases. *Semin Immunol.* 12:75-84, 2000.
 98. Clements JL. Boerth NJ. Lee JR. et al. Integration of T cell receptor-dependent signaling pathways by adapter proteins. *Annu Rev Immunol.* 17:89-108, 1999.
 99. Mustelin T. Alonso A. Bottini N. et al. Protein tyrosine phosphatases in T cell physiology. *Mol Immunol.* 41:687-700, 2004.
 100. Cohen S. Dadi H. Shaoul E. et al. Cloning and characterization of a lymphoid-specific, inducible human protein tyrosine phosphatase, Lyp. *Blood.* 93:2013-24, 1999.
 101. Wang SC. Chen YJ. Ou TT. et al. Programmed death-1 gene polymorphisms in patients with systemic lupus erythematosus in Taiwan. *J Clin Immunol.* 26:506-11, 2006.

102. Hawa MI. Beyan H. Buckley LR. et al. Impact of genetic and non-genetic factors in type 1 diabetes. *Am J Med Genet.* 115:8-17, 2002.
103. Kong EK. Prokunina-Olsson L. Wong WH. et al. A new haplotype of PDCD1 is associated with rheumatoid arthritis in Hong Kong Chinese. *Arthritis Rheum.* 52:1058-62, 2005.
104. Iwamoto T. Ikari K. Inoue E. et al. Failure to confirm association between PDCD1 polymorphisms and rheumatoid arthritis in a Japanese population. *J Human Genet.* 52:557-60, 2007.
105. Thorburn CM. Prokunina-Olsson L. Sterba KA. et al. Association of PDCD1 genetic variation with risk and clinical manifestations of systemic lupus erythematosus in a multiethnic cohort. *Genes Immun.* 8:279-87, 2007.
106. Hayashi M. Kouki T. Takasu N. et al. Association of an A/C single nucleotide polymorphism in programmed cell death-ligand 1 gene with Graves' disease in Japanese patients. *Eur J Endocrinol.* 158:817-22, 2008.
107. Wang SC. Lin CH. Li RN. et al. Polymorphisms of genes for programmed cell death 1 ligands in patients with rheumatoid arthritis. *J Clin Immunol.* 27:563-7, 2007.
108. Wang SC. Lin CH. Ou TT. et al. Ligands for programmed cell death 1 gene in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 34:721-5, 2007.
109. Choi S. Lee E. Kwon S. et al. Transmembrane domain-induced oligomerization is crucial for the functions of syndecan-2 and syndecan-4. *J Biol Chem.* 280:42573-9, 2005.
110. Ueda H. Howson JM. Esposito L. et al. Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease. *Nature.* 423:506-11, 2003.
111. Anjos S. Nguyen A. Ounissi-Benkhalha H. et al. A common autoimmunity predisposing signal peptide variant of the cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 results in inefficient glycosylation of the susceptibility allele. *J Biol Chem.* 277:46478-86, 2002.
112. Lei C. Dongqing Z. Yeqing S. et al. Association of the CTLA-4 gene with rheumatoid arthritis in Chinese Han population. *Eur J Human Genet.* 13:823-8, 2005.
113. Wang L. Li D. Fu Z. et al. Association of CTLA-4 gene polymorphisms with sporadic breast cancer in Chinese Han population. *BMC Cancer.* 7:173, 2007.
114. Liu MF. Wang CR. Lin LC. et al. CTLA-4 gene polymorphism in promoter and exon-1 regions in Chinese patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 10:647-9, 2001.
115. Kavvoura FK. Ioannidis JP. CTLA-4 gene polymorphisms and susceptibility to type 1 diabetes mellitus: a HuGE Review and meta-analysis. *Am J Epidemiol.* 162:3-16, 2005.
116. Lee YH. Harley JB. Nath SK. CTLA-4 polymorphisms and systemic lupus erythematosus (SLE): a meta-analysis. *Human Genet.* 116:361-7, 2005.
117. Kawasaki E. Awata T. Ikegami H. et al. Systematic search for single nucleotide polymorphisms in a lymphoid tyrosine phosphatase gene (PTPN22): association between a promoter polymorphism and type 1 diabetes in Asian populations. *Am J Med Genet Part A.* 140:586-93, 2006.
118. Hu YF. Luscher B. Admon A. et al. Transcription factor AP-4 contains multiple dimerization domains that regulate dimer specificity. *Genes Dev.* 4:1741-52, 1990.
119. Cinek O. Hradsky O. Ahmedov G. et al. No independent role of the -1123 G>C and +2740 A>G variants in the association of PTPN22 with type 1 diabetes and juvenile idiopathic arthritis in two Caucasian populations. *Diabetes Res Clin Pract.* 76:297-303, 2007.
120. Viken MK. Olsson M. Flam ST. et al. The PTPN22 promoter polymorphism -1123G>C association cannot be distinguished from the 1858C>T association in a Norwegian rheumatoid arthritis material. *Tissue Antigens.* 70:190-7, 2007.
121. Brand O. Gough S. Heward J. HLA, CTLA-4 and PTPN22: the shared genetic master-key to autoimmunity?. *Expert Rev Mol Med.* 7:1-15, 2005.
122. Zhang ZH. Chen F. Zhang XL. et al. PTPN22 allele polymorphisms in 15 Chinese populations. *Int J Immunogenet.* 35:433-7, 2008.

研究設計

我們首先設計一個以醫院為基礎的世代研究，來瞭解僵直性脊椎炎臨床流行病學之現況；並且探討僵直性脊椎炎病患的疾病自然史，尋找影響疾病病程與預後的可能因素。接續，執行病例對照研究，探討骨骼重塑模式以及自體免疫耐受性相關基因與僵直性脊椎炎發生的可能相關。

第一部分：僵直性脊椎炎病患之世代建立

研究對象皆由中山醫學大學附設醫院免疫風濕科門診所收集之僵直性脊椎炎病患資料庫中獲得，此資料庫在中山醫學大學附設醫院人體試驗委員會核可後，於 2002 年 11 月開始收集病患相關資料至 2008 年 7 月，總共記錄著 1248 名符合 New York 標準的僵直性脊椎炎病患資料。所有參與研究者之同意書皆被獲取，初診患者除了接受巴斯僵直性脊椎炎評估量表，包括 BASDAI、BASFI 及 BAS-G 的評估之外，理學檢查、血液生化指標與 HLA-B27 基因也被評估。其中，理學檢查評估的項目涵蓋有枕骨至牆壁距離、指尖離地距離、腰椎彎曲試驗、側向彎曲試驗與胸部擴張試驗；血液生化指標的項目則包括有 ESR、CRP 與 A 型免疫球蛋白 (IgA)。這些量表與評估方法也被使用於後續的追蹤。關於僵直性脊椎炎病患的個人特徵資料亦於初診檢查期間經由面對面的問卷訪視所收集，問卷的內容包含有人口學基本資料、運動習慣、藥物使用狀況、個人與家族疾病史。運動習慣是詢問病患最近三個月內有無運動或做體操，若患者自我報告次數每週至少兩次以上則定義為有運動習慣者。藥物使用狀況為詢問患者近三個月內有無服用非類固醇消炎止痛劑 (NSAIDs)、或是最近三個月內有無服用免疫調節劑 (DMARDs)，如 sulfasalazine 與 methotrexate。而個人疾病史包含個人發病年齡、發病年數、以及脊椎炎相關症狀；具家族疾病史者則定義為研究對象之親屬具有僵直性脊椎炎、乾癬、虹彩炎或發炎性腸道疾病者。個人脊椎炎相關症狀，如虹彩炎、發炎性腸道疾病、乾癬以及藥物使用狀況皆由專科醫師進行確認。然而，我們排除 9 名有 BASDAI、BASFI 與 BAS-G 資料缺失的研究對象，以及 154 名年齡和初始症狀發病年齡小於 16 歲或大於 65 歲的研究對象。最後，共有 1085 名僵直性脊椎炎病患與 2995 筆初診與後續追蹤的資料納入僵直性脊椎炎臨床流行病學資料分析，此外，628 名研究對象被排除掉後續的追蹤研究分析，原因是他們的回診次數小於一次或是追蹤時間小於一年，平均追蹤年數是 2.3 年。本研究使用之巴斯僵直性脊椎炎評估量表，包含 BASDAI、BASFI 與 BAS-G 量表。這三份量表的中譯版皆具有良好的內部一致性 (cronbach's α) 及觀察者內信度 (intraclass correlation coefficient; ICC)；內部一致性分別為 0.87、0.94 及 0.90，觀察者內信度分別為 0.93、0.92 及 0.94。BASDAI 量表測量過去一週內，病患疲累、脊椎疼痛、周邊關節疼痛和/或腫脹、局部觸痛與晨間僵硬之嚴重程度；此外，它同時亦測量病患晨間僵硬之時間；BASFI 量表測量過去一週內病患從事日常生活活動之能力；BAS-G 量表是由病患評估在過去一週內與過去六個月內，疾病對他們造成之影響。所有僵直性脊椎炎患者皆由經過訓練的研究人員執行理學檢查之評估，所評估的部位包含有頸椎 (枕骨至牆壁距離) 與胸及腰椎 (指尖離地距離、腰椎彎曲試驗、側向彎曲試驗、胸部擴張試驗)。上述五項理學檢查皆具有良好的觀察者間信度 (interobserver reliability) 與觀察者內信度 (intraobserver reliability)；其觀察者間信度為 0.85-0.96；觀察者內信度分別為 0.95-0.99。研究對象的靜脈血液是於醫學檢查過程中同時被收集，樣本儲存於 4°C 下且於同一天之內被處理。HLA-B27 基因檢測以依照先前的研究方法以流式細胞儀測定，所有血液生化指標檢驗 (ESR、IgA 或 CRP) 皆由中山醫學大學附設醫院檢驗醫學部執行。

第二部分：探討骨骼重塑模式之 RANKL/RANK/OPG 基因多形性與僵直性脊椎炎發生的可能相關

利用分子流行病學的設計，探討 RANK C575T、RANKL C-290T、OPG G1181C 基因多形性與僵直性脊椎炎發生與臨床表徵之相關。我們從 2002 年 11 月至 2012 年 12 月於中山醫學大學附設醫院免疫風濕科，收集 18 歲以上之僵直性脊椎炎病患為病例。合格的病患是經由免疫風濕專科醫師確診，並須符合 1984 年 New York 標準。本研究之病例與對照的配對比例為 1:1，健康對照是以病例之年齡 (± 5 歲) 與性別所配對；健康對照是選取於同一教學醫學中心執行健康檢查並且無脊椎關節炎相關疾病之健康成人；對照若在健康檢查期間一週內具有懷孕、三個月內具有服藥情形、具有骨質疏鬆症、骨折、乾癬、萊特氏症候群、心血管疾病、發炎性腸道疾病 (inflammatory bowel disease; IBD)、以及甲狀腺疾病者，則被排除於研究樣本之外。在收集研究對象的個人特徵資料之前，我們會先獲得研究對象的知情同意書；經由面對面的問卷訪視收集病患的個人特徵資料，問卷所涵蓋的問題包括：人口學特質、詳細的個人以及家族疾病史。個人疾病史，包括初始症狀發病年齡、疾病病程、與脊椎關節外的相關併發症。而初始症狀發病年齡的定義是首次症狀發病時間，無論是脊椎症狀 (axial symptom)、周邊關節炎、虹彩炎、與接骨點發炎。周邊關節炎的定義是至少有一個腫脹關節呈現。薦腸骨關節炎 (sacroiliitis) 是由合格的放射科醫師所確認；發炎性腸道疾病與大腸急躁症不同，其定義是結腸和小腸具有發炎發生，包括潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis) 以及克隆氏症 (Crohn's disease)。虹彩炎的定義是眼睛的中介

層 (middle layer) 有發炎反應，包括單眼或雙眼。這些症狀均是由合格的免疫風濕科醫師、腸胃科醫師、與眼科醫師檢查確診後記錄於臨床病歷。RANK C575T (rs1805034)、RANKL C-290T (rs9525641)、與 OPG G1181C (rs2073618) 基因型判定是以聚合酶鏈鎖反應-限制片段長度多形性 (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism; PCR-RFLP) 分析來檢測。條件式邏輯斯迴歸模式 (conditional logistic regression model) 被使用來評估 RANK C575T、RANKL C-290T、OPG G1181C 基因型與僵直性脊椎炎發生之關係，變異數分析 (analysis of variance; ANOVA) 和 *t*-test 被使用來評估初始症狀發病年齡在不同性別、對偶基因、與 HLA-B27 之僵直性脊椎炎病患分組間之差異。多變項邏輯斯迴歸模式被使用於調整可能干擾因子之效應後，評估基因型對於僵直性脊椎炎病患其併發症狀發生之相關性，*P* 值以 Bonferroni-Holm test 進行校正。

第三部分：探討自體免疫耐受性相關基因 (PD-1、PD-L1、PD-L2、CTLA-4 與 PTPN22) 與僵直性脊椎炎發生的可能相關

評估免疫耐受性相關的 CTLA-4 A49G 與 PTPN22 G-1123C 基因型以及 PD-1 G-536A、PD-L1 A8923C、與 PD-L2 C47103T 基因型和僵直性脊椎炎發生以及臨床表徵之相關。CTLA-4、PTPN22、PD-1、PD-L1、與 PD-L2 的基因型是以 PCR-RFLP 分析來檢測。條件式邏輯斯迴歸模式被使用來評估 CTLA-4 A49G、PTPN22 G-1123C、PD-1 G-536A、PD-L1 A8923C、與 PD-L2 C47103T 基因型與僵直性脊椎炎發生之單獨或合併效應，並且多變項邏輯斯迴歸模式被使用於調整可能干擾因子之效應後，評估基因型對於僵直性脊椎炎病患的併發症狀發生之合併效應。

摘要

現今的研究探討台灣僵直性脊椎炎病患的疾病自然史與尋找疾病進展的預測因子。在 2002 年至 2008 年之間，總共納入 1085 名僵直性脊椎炎病患進入這項以醫院為基礎的世代研究，問卷被執行以獲取所有病患的人口學資料及臨床特徵，巴斯僵直性脊椎炎疾病活動量表 (Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index; BASDAI)、巴斯僵直性脊椎炎功能量表 (Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index; BASFI)、巴斯僵直性脊椎炎整體評分 (Bath Ankylosing Spondylitis Global Score; BAS-G)、理學檢查、以及生化指標也被重複測量。我們的結果顯示病患的男女性別比為 2.5:1，平均發病年齡為 27.7 ± 9.6 (標準差) 歲；而男性、較早的疾病發病年齡以及周邊關節炎症狀與其臨床症狀的表現具有相關性。進一步地，457 名僵直性脊椎炎病患被持續地追蹤其疾病進展，男性病患相較於女性病患其長期的 BASDAI 與 BAS-G 量表分數具有顯著減少；而發炎性腸道疾病、指尖離地距離及 C-反應蛋白 (C-reactive protein; CRP) 與病患長期的 BASDAI 量表分數之增加具有顯著相關；枕骨至牆壁距離、指尖離地距離與 CRP 值則和病患長期的 BAS-G 量表分數之增加具有顯著相關。我們的研究建議著，性別、發病年齡及周邊關節炎症狀是相關於僵直性脊椎炎患者的臨床症狀表現；而性別、發炎性腸道疾病、腰椎活動度與體內發炎程度可能為僵直性脊椎炎患者長期疾病活動程度的預測指標，其性別、頸椎與腰椎活動度以及體內發炎程度則為患者長期身心舒適狀態之預測指標。這些發現可以幫助我們瞭解台灣僵直性脊椎炎病患疾病進展的影響因子。

關鍵詞：僵直性脊椎炎、臨床流行病學、疾病自然史、疾病活動程度。

前言

僵直性脊椎炎 (ankylosing spondylitis; AS) 為血清陰性脊椎關節病變 (seronegative spondyloarthritis; SpA)，主要的症狀是下背痛、脊椎活動範圍受限、與晨間僵硬 [1]，僵直性脊椎炎的臨床表徵也包括周邊關節炎、虹彩炎 (uveitis)、發炎性腸道疾病 (inflammatory bowel disease [IBD])、與乾癬 (psoriasis)[2]。僵直性脊椎炎的初始症狀發病年齡是 16-40 歲，並且男性之盛行比例高於女性 [3-5]。僵直性脊椎炎強烈相關於人類白血球抗原 (human leukocyte antigen; HLA)-B27 基因 [6]，HLA-B27 基因也被觀察到相關於僵直性脊椎炎的初始症狀發病年齡 [7]。先前研究也觀察到僵直性脊椎炎的疾病自然史，Little 等人 [8] 觀察到僵直性脊椎炎的發生與開始通常是隱伏的 (insidious)；疾病症狀會有惡化與紓解之改變；患者脊椎關節活動受限與畸形的情形會日益嚴重；如果病患的周邊關節同時也被侵犯，僵直性脊椎炎症狀發生的時間將會提前；相較於其他關節外症狀，病患出現虹彩炎症狀的年齡較早，並且會不斷地反覆發作；若患者的症狀開始發生於 16 歲之前，其患者的疾病狀況則較為嚴重；女性患者相較於男性患者具有較輕微的疾病嚴重程度。然而，對於亞洲僵直性脊椎炎病患的疾病自然史的瞭解是知之甚少。

對於僵直性脊椎炎病患，一些問卷已經被發展來評估疾病活性、功能性損傷、與整體的身心舒適狀態 [9-11]。脊椎活動度評估已經被建議是僵直性脊椎炎的臨床評估 [12]，並且這些評估量表是相關於病患的功能性損傷 [13]。發炎指標包括紅血球沈降速率 (erythrocyte sedimentation rate; ESR) 與 C-反應蛋白 (C-reactive protein; CRP) 也被建議是疾病活性的主要臨床評估指標 [14]。一項英國皇家國立風濕病醫院 (Royal National Hospital for Rheumatic Diseases; RNHRD) 的研究，觀察到初始症狀發病年齡在 21 歲以前之僵直性脊椎炎患者相較於首次症狀發病年齡為 30 歲以上之患者，具有顯著較高的巴斯僵直性脊椎炎放射量表 (Bath Ankylosing Spondylitis Radiological Index; BASRI) 以及較低的巴斯僵直性脊椎炎疾病活動量表 (Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index; BASDAI)[5]，此外，研究亦發現初始症狀發病年齡與患者髖關節 (hip) 病變及疾病活動程度相關；然而，並未觀察到首次症狀發病年齡與疾病的嚴重程度具有相關性 [5]。後來，英格蘭的研究者也觀察到病患平均每年疾病活動程度 (BASDAI) 是增加 0.06 cm，身體功能 (BASFI) 則是每年損失 1.26 cm，並且周邊關節炎、虹彩炎與發病年齡較晚可能是患者功能耗損的一項指標 [15]。其它的前瞻性研究也觀察到僵直性脊椎炎病患會隨著時間的進展而有增加的疾病活性 (BASDAI) 與較差的身體功能 (BASFI)[16, 17]。此外，BASDAI 與 BASFI 分數可能也會受到性別、疾病病程、髖關節疾病、與家族史所影響 [18, 19]。

只有一篇亞洲的研究探討僵直性脊椎炎的疾病自然史與疾病進展 [18]。在現今的研究中，我們評估僵直性脊椎炎的疾病自然史以及探討台灣僵直性脊椎炎病患的疾病進展的預測因子。

病患與材料方法

研究對象

此研究符合赫爾辛基宣言，並且研究設計與結果經過中山醫學大學附設醫院人體試驗委員會的批准。在 2002 年 11 月至 2008 年 7 月於台灣中山醫學大學附設醫院風濕門診，總共記錄著 1248 名初診僵直性脊椎炎病患資料。這些病患均符合 New York 標準 [20]，並且經由合格的免疫風濕醫師確診。BASDAI、BASFI、巴斯僵直性脊椎炎整體評分 (Bath Ankylosing Spondylitis Global Score; BAS-G)、脊椎活動度、與發炎標記在初診與後續回診時均被測量。在研究追蹤期間，我們定期地寄發信件提醒病患回診追蹤病程。我們研究排除 9 名初診資料即缺漏 BASDAI、BASFI 或 BAS-G 量表之病患，以及 154 名收案年齡與首次症狀發病年齡小於 16 歲或大於 65 歲之患者；因此，最後是包含 1085 名僵直性脊椎炎病患與 2995 筆初診或複診資料被納入以評估僵直性脊椎炎的疾病自然史。進一步地，628 名被排除於我們的追蹤研究，由於這些病患評估次數少於 1 次，或是追蹤總年數未滿 1 年者即排除於研究。最終有 457 名僵直性脊椎炎病患被納入研究分析，以評估僵直性脊椎炎的疾病自然史與病程，每名患者平均是被追蹤 2.3 年的時間。

問卷

關於僵直性脊椎炎病患的個人特徵資料亦於初診檢查期間經由面對面的問卷訪視所收集，問卷的內容包含有人口學基本資料、運動習慣、藥物使用狀況、個人與家族疾病史。運動習慣是詢問病患最近三個月內有無運動或做體操，若患者自我報告次數每週至少兩次以上則定義為有運動習慣者。藥物使用狀況為詢問患者近三個月內有無服用非類固醇抗消炎止痛劑 (non-steroidal anti-inflammatory drugs; NSAIDs)、或是最近三個月內有無服用免疫調節劑 (disease modifying anti-rheumatic drugs; DMARDs)，如 sulfasalazine 與 methotrexate。初始症狀發病年齡被定義為首次症狀 (脊椎症狀 [axial symptom]、周邊關節炎、虹彩炎 [uveitis] 或接骨點發炎 [enthesitis]) 發病的時間。

而個人疾病史包含個人發病年齡、發病年數、以及脊椎炎相關症狀；具家族疾病史者則定義為研究對象之親屬具有僵直性脊椎炎、乾癬、虹彩炎或發炎性腸道疾病者。延遲診斷時間被定義為僵直性脊椎炎的初始症狀的發生與確診之間的間距。家族史被定義為一等親親屬具有僵直性脊椎炎、發炎性腸道疾病 (inflammatory bowel disease; IBD)、反覆性關節炎 (reactive arthritis)、或乾癬性關節炎 (psoriatic arthritis)。周邊關節炎被定義為至少有一個腫脹的關節呈現，並且發炎性腸道疾病被定義為大腸和小腸有發炎的情形，包括潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis) 與克隆氏症 (Crohn's disease)。虹彩炎被定義為眼睛的中介層 (middle layer) 具有發炎反應呈現，包括單眼或雙眼。乾癬被定義為發炎病變部位覆蓋有銀白色的死皮結痂症狀。這些症狀均是由風濕科醫師、腸胃科醫師、眼科醫師、與皮膚科醫師所確診。

臨床評估和實驗室分析

僵直性脊椎炎病患的疾病活性、身體功能、與整體身心狀態分別是以巴斯僵直性脊椎炎疾病活性指數 (Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index; BASDAI)、巴斯僵直性脊椎炎功能性指數 (Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index; BASFI)、以及巴斯僵直性脊椎炎健康綜合評分 (Bath Ankylosing Spondylitis Global; BAS-G) 來評估，BASDAI、BASFI、與 BAS-G 的修飾後中文版具有良好的組間相關係數 (intra-class correlation) 與 Cronbach's alpha [21]。

脊椎活動評估包括指尖離地距離、腰椎彎曲試驗、側向彎曲試驗、胸部擴張試驗、與枕骨至牆壁距離，這些評估被使用來評估頸椎與胸及腰椎，並且具有良好的觀察者間信度 (interobserver reliability) 與觀察者內信度 (intraobserver reliability) [22, 23]。研究對象的靜脈血液是於醫學檢查過程中同時被收集，樣本儲存於 4°C 下且於同一天之內被處理。人類白血球抗原 (human leukocyte antigen; HLA)-B27 的帶原狀態是以流式細胞儀來測定之 [24]。發炎指標，包括 ESR、CRP、與免疫球蛋白 (immunoglobulin) A 也被測量。

統計分析

資料描述是以個數 (%) 與算術平均數 ± 標準差 (standard deviation; SD) 來呈現。人口學基本特徵、運動習慣、藥物使用狀況、個人及家族疾病史、巴斯僵直性脊椎炎評估量表、理學檢查與血液生化指標之分佈在性別與周邊關節炎有無之分層差異是以 *t*-test 與 χ^2 -test 評估，並且 χ^2 -test 與變異數分析 (analysis of variance; ANOVA) 被使用來評估這些變項在不同初始症狀發病年齡之間的差異。在縱貫式研究中，以每年改變量 (change per year; change/yr) 與每年曲線下面積 (AUC/yr) 呈現病患疾病活性、功能性損傷、與整體身心舒適狀態之變化情形；然後以一般線性混合模式 (general mixed linear model) 被使用來探討疾病進展的預測因子。所有的資料皆以統計軟體 SAS 9.0 進行統計分析，所有 *P* 值將以雙尾檢定來計算，*P* < 0.05 即認定為具有統計學上顯著意義。

結果

以性別分組的僵直性脊椎炎病患之基本人口學特質與臨床資料

總計有 1085 名僵直性脊椎炎初診病患資料被納入分析。其中，男性患者有 778 名 (71.7%)，研究對象的平均年齡為 35.5 ± 10.4 (標準差) 歲，初始症狀發病年齡平均為 27.7 ± 9.6 歲，並且平均疾病持續時間為 7.8 ± 7.9 年 (表 3-1)。在僵直性脊椎炎病患中，53.4% 之僵直性脊椎炎患者罹患有周邊關節炎，21.8% 之病患罹患虹彩炎，而具有乾癬或發炎性腸道疾病的僵直性脊椎炎病患比例則分別為 11.3% 與 6.5%。總共有 89.4% 的病患是 HLA-B27 基因陽性。男性相較於女性是具有顯著較早的初始症狀發病年齡 (26.7 歲 vs. 30.3 歲; *t*-test, *P* < 0.001)、較長的疾病持續時間 (8.5 年 vs. 6.0 年; *P* < 0.001) 與延遲診斷病程 (4.6 年 vs. 2.1 年; *P* < 0.001)；而女性病患相較於男性具有相關家族史比例也顯著較高 (49.5% vs. 37.8%, *P* < 0.001)。此外，男性病患也較女性病患具有較高的運動習慣比例 (40.6% vs. 31.3%; χ^2 -test, *P* = 0.004)、與罹患乾癬之比例 (12.7% vs. 7.8%; *P* = 0.022)、較高的非類固醇消炎止痛劑使用比例 (36.5% vs. 29.6%; *P* = 0.032)、較高 BASFI 量表分數 (2.2 cm vs. 1.7 cm; *P* = 0.003)、枕骨至牆壁距離 (2.2 cm vs. 0.3 cm; *P* < 0.001)、指尖離地距離 (18.2 cm vs. 10.6 cm; *P* < 0.001)、CRP 值 (1.4 mg/dl vs. 0.5 mg/dl; *P* < 0.001) 與 IgA 值 (328.3 mg/dl vs. 274.8 mg/dl; *P* < 0.001)，以及顯著較低的腰椎彎曲試驗分數 (4.9 cm vs. 5.7 cm; *P* < 0.001)。

以初始症狀發病年齡分組的僵直性脊椎炎病患之基本人口學特質與臨床資料

表 3-2 呈現初始症狀發病年齡分組的基本人口學特質與臨床資料。初始症狀發病年齡小於 20 歲的病患相較於 20-29 歲者與大於 30 歲以上者具有顯著較高的男性、周邊關節炎、僵直性脊椎炎疾病家族史比例、與較長的疾病持續病程和延遲診斷時間。初始症狀發病年齡小於 20 歲病患與 20-29 歲病患相較於大於 30 歲以上者具有顯著較高的 NSAIDs 和 DMARDs 藥物治療比例、HLA-B27⁺ 比例、與較高的 BASDAI 和 BAS-G 分數。然而，有運動習慣比例、關節外症狀 (extra-articular symptoms)、BASFI 分數、脊椎活動評估、和發炎標記指標在這些組別間並無顯著差異。

以有無周邊關節炎分組的僵直性脊椎炎病患之基本人口學特質與臨床資料

在我們的僵直性脊椎炎病患中，超過一半的病患具有周邊關節炎，因此，我們也評估基本人口學特質與臨床資料在有無周邊關節炎分組之間的差異 (表 3-3)。有周邊關節炎病患相較於無周邊關節炎者具有顯著較早的初始症狀發病年齡、較長的疾病持續時間與延遲診斷時間、和較高的運動習慣比例。此外，有周邊關節炎病患相較於無周邊關節炎者也具有顯著較高的虹彩炎、發炎性腸道疾病、與使用 NSAIDs 和 DMARDs 藥物比例、以及較高的 BASDAI、BASFI、BAS-G 分數、枕骨至牆壁距離、指尖離地距離、ESR、CRP、與 IgA 數值。

僵直性脊椎炎病患在追蹤其間的 BASDAI、BASFI、與 BAS-G 的每年變化與曲線下面積分數

在我們的研究中，457 名病患被持續地追蹤其疾病進展 (圖 3-1)；每名患者平均被追蹤 2.3 ± 1.4 年，最長者為 5 年。病患從追蹤起啟至結束之 BASDAI、BASFI、與 BAS-G 量表整體的每年曲線下面積分數分別為 3.7 公分 (95% C.I. = 3.5, 3.9)、2.0 公分 (95% C.I. = 1.8, 2.1) 與 3.8 公分 (95% C.I. = 3.6, 4.0)。而 BASDAI (mean change = -0.33; 95% C.I. = -0.47, -0.18) 與 BAS-G (mean change = -0.37; 95% C.I. =

-0.55, -0.20) 隨著追蹤時間有降低的趨勢，然而，BASFI 並無顯著的變化 (mean change = -0.03; 95% C.I. = -0.15, 0.10)。

僵直性脊椎炎病患的疾病預測因子

以一般線性混合模式 (general mixed linear model) 分析影響僵直性脊椎炎病患長期疾病活性與整體身心狀態變化之因素。表 3-4 (模式 1) 呈現 BASDAI 量表分數的多變項模式，自變項包含了基本人口學、運動習慣、個人疾病史、僵直性脊椎炎家族疾病史、藥物使用狀況、HLA-B27 基因、理學檢查、血液生化指標以及追蹤年數。因為考量 BASDAI 量表與 BASFI 量表 ($r = 0.571, P < 0.001$)、BAS-G 量表 ($r = 0.761, P < 0.001$) 彼此間的共線性效應，因此在模式中並未同時考慮 BASFI 和 BAS-G 量表分數之效應。我們觀察到男性、運動習慣、追蹤年數與病患長期的 BASDAI 量表分數之減少具有統計上顯著的相關；而發炎性腸道疾病、指尖離地距離及 CRP 值則與病患長期的 BASDAI 量表分數之增加具有統計顯著之相關。進一步地，將模式一中呈現統計顯著之變項，再次納入混合模式中相互調整其效應 (模式二)，性別、追蹤年數、發炎性腸道疾病、指尖離地距離與 CRP 值依舊維持著對於 BASDAI 量表分數變化的效應。同樣地，我們也分析影響病患整體身心舒適狀況變化 (BAS-G) 的因素 (表 3-5)，男性、運動習慣、追蹤年數與病患 BAS-G 量表分數的減少具有統計上顯著相關；相反地，枕骨至牆壁距離、指尖離地距離與 CRP 值則和病患 BAS-G 量表分數的增加具有統計顯著相關。在相互調整顯著變項之效應後，性別、追蹤年數、枕骨至牆壁距離、指尖離地距離及 CRP 值依舊維持著對於病患 BAS-G 量表分數變化的顯著效應。

討論

相似於先前的研究 [3-5]，我們的結果顯示僵直性脊椎炎之男性盛行比例是高於女性，男女性別比為 2.5:1。此外，先前的研究指出僵直性脊椎炎之男性患者具有較早的初始症狀發病年齡，而女性患者相較於男性患者具有較高的一等親罹患僵直性脊椎炎的家族史比例，並且具有家族疾病史之患者相較於不具家族疾病史之患者呈現較早的首次症狀發病年齡 [5]，相似的結果也在我們的觀察中，這可能與遺傳負荷效應有關，由於男性患者可能在先天遺傳上相較女性患者攜帶較多的易感受性基因因子，因而較容易發病 [3]。另外，Calin 等人 [3] 研究也顯示，女性患者的親屬其性別與疾病的發生並無顯著上之差異；但男性患者的兒子或其兄弟相較於女兒或其姊妹則有較高的疾病發生危險。因此，子宮效應 (uterine effect) 也被建議可能與女性患者之子女罹病機率較男性患者之子女為高之結果有關；因為女性患者可能藉由胎盤將環境誘病因子傳遞給胎兒，而男性患者則無法經由此路徑傳遞給後代。此外，女性患者相較男性具有較高的家族史比例，也可能是因為女性對於親屬身體狀況的警覺及敏感度較高所造成 [5, 25]。另一方面，僵直性脊椎炎患者的疾病活動程度、身體功能、脊椎活動度與體內發炎程度於性別上所造成之差異，目前仍然尚未被充分地瞭解。在我們的觀察中，男性患者相較女性患者具有較差的身體功能狀態、脊椎活動度、較嚴重的發炎程度，與較高的藥物使用比例，這些結果相似於先前的研究 [26, 27]。在其它研究中，不一致的結果也被觀察，女性病患相較於男性病患具有較嚴重的疾病活性、較差的身體功能和生活品質 [19, 28]；差異的原因可能是在他們的研究中，較多比例的女性病患 (性別比分別為 1.6:1 與 1.3:1) 以及較少的 HLA-B27 基因陽性者 (71.7%) 被納入其中 [19, 28]。

一些研究發現具有較早初始症狀發病年齡的僵直性脊椎炎病患具有較高的周邊關節炎與關節外症狀比例，這個結果獨立於疾病期間 [29, 30]，然而，較晚初始症狀發病年齡的病患具有較嚴重的頸椎疼痛、前胸壁 (anterior chest wall) 病變、無菌性骨炎 (aseptic osteitis) [31]。我們的結果則是觀察到發病年齡較早之患者罹患周邊關節炎的比例較高，相較於發病年齡較晚之患者；並且由於較早發病之患者可能具有較為嚴重的周邊關節或腕關節被侵襲之情形，所以也具有較嚴重的疾病活動程度與較差的身心舒適狀態，相對地藥物使用的比例亦較為高。先前研究建議發病年齡較早之僵直性脊椎炎病患相較於發病年齡較晚之病患可能在先天上攜帶有較多的易感受性基因因子，進而造成兩者對於疾病症狀的表現也有所差異 [4]，此外，在我們的研究對象中，發病年齡較早之患者相較於較晚之患者具有顯著較高的家族疾病史與 HLA-B27 基因陽性比例。同樣地，英國的研究也顯示具有家族疾病史之僵直性脊椎炎患者相較於未具家族疾病史之患者擁有較早的發病年齡 [5]；這可能是因為具有家族史之患者攜帶較多的易感受性基因因子，並且已經具有家族史的患者對於其他家族成員是否具有類似僵直性脊椎炎症

狀的警覺度較高，容易導致疾病被提前診斷出現。

在我們的研究中，超過半數以上 (53.4%) 的僵直性脊椎炎患者具有周邊關節炎，而具有周邊關節炎之患者同時亦較容易罹患虹彩炎、發炎性腸道疾病與乾癬等關節外的症狀。進一步地，我們也發現到具有周邊關節炎之僵直性脊椎炎患者呈現較為嚴重的疾病活動程度與體內發炎程度、以及較差的身體功能與整體身心舒適狀態；相對地亦具有較高的藥物使用率。相似於我們的發現，先前研究也發現周邊關節炎相關於較差的疾病活性 (BASDAI)[19, 32]。

一般而言，僵直性脊椎炎的病程發展相當地緩慢且病程時間又長，一旦發病後，倘若病情未受到良好的控制，嚴重時將可能導致患者的關節受損、脊椎關節畸形或僵硬以及身體行動受限 [33]，使得患者的身體功能和心理皆備受衝擊。因此，對於僵直性脊椎炎之疾病自然史與病程加以瞭解，應可應用病患本身的經驗來幫助病患改善未來疾病之結果。Swinkels 與 Dolan [17] 針對 27 名症狀較為輕微並且在測試前 9 個月未接受物理治療的僵直性脊椎炎患者，進行為期 12 個月到 18 個月之追蹤，結果發現在這段期間內患者的身體功能狀態並無明顯地耗損，但其疾病活動程度是隨著時間的進展而顯著地惡化。兩項在北歐進行的僵直性脊椎炎病患追蹤研究，顯示身體功能 (BASFI) 隨著追蹤時間具有下降的趨勢 [15, 16]，並且在 Robertson 和 Davis [15] 觀察到僵直性脊椎炎病患的疾病活性相對地維持一致，這些結果與我們的結果是不一致的，我們的病患在五年的追蹤期間中，疾病活性 (BASDAI) 和整體身心狀態 (BAS-G) 具有緩慢的改善，並且身體功能 (BASFI) 是沒有任何改變，我們的結果與 Swinkels 和 Dolan 的研究結果相反 [17]，此不一致的結果可能原因是我們的僵直性脊椎炎病患可能有持續不斷地接受藥物治療與積極地控制自身病情，此外，我們也無於追蹤起始時限制患者的疾病活性。一項法國的研究也觀察到僵直性脊椎炎病患的 BASDAI 分數負向相關於疾病病程，這也可能為僵直性脊椎炎患者對於疾病所產生的疼痛、僵硬與不適感已經漸漸地被適應所致 [19]，此外，在北歐的研究中所追蹤的僵直性脊椎炎患者於研究開始追蹤時具有較長的平均病程時間 (27.9 年和 23.0 年) 以及較高的平均收案年齡 (48.5 歲和 49.0 歲)[15, 16]；而我們的研究對象則較為年輕 (平均收案年齡為 35.5 歲) 以及具有較短的平均病程 (7.8 年)。因此，較為年長之僵直性脊椎炎患者可能因為老化因素之影響，導致身體功能狀態明顯惡化之情形，而較長的病程可能也反應了不再變化的疾病活動程度；另一方面，在北歐的研究 [15, 16] 也觀察到僵直性脊椎炎病患具有較差的身體功能。然而，我們的病患是較年輕的，因此，他們的身體功能狀態則尚未產生明顯的變化。

進一步地，一般線性混合模式顯示性別、追蹤時間、發炎性腸道疾病、腰椎活動範圍、與發炎反應相關於台灣僵直性脊椎炎病患的長期疾病活性 (BASDAI)，並且性別、追蹤時間、脊椎與腰椎活動範圍、與發炎反應也相關於病患的長期整體身心狀態 (BAS-G)。病患的脊椎活動程度受限是脊椎關節持續地發生骨質破壞、鈣化或纖維化之現象所導致 [1]，可能反應著較為嚴重的疾病發展程度，最後病患可能因脊椎黏合而造成畸形或駝背 [34]，進而影響其身心舒適狀態的耗損。因此，具有脊椎活動範圍受限的病患可能有較嚴重的疾病病程。而血液中 CRP 濃度之增加也是相關於僵直性脊椎炎病患較為嚴重的脊椎關節病變及疾病活性 [35]；因為當病患的脊椎或周邊關節持續地承受發炎性傷害，病患也較容易反應出較多的關節疼痛與僵硬之情形。此外，發炎性腸道疾病會增加僵直性脊椎炎病患的疾病活性 [4]，並且具有發炎性腸道疾病的病患亦會伴隨有關節疼痛的症狀 [36]，這可能是因為發炎性腸道疾病的易感受性因子對於僵直性脊椎炎患者之疾病活性具有額外的附加效應。我們的研究也觀察到男性之僵直性脊椎炎病患相較於女性病患具有較高的疾病活性；由於在初診時男性患者相較於女性患者具有較為嚴重的疾病情況，因而在後續的追蹤期間，男性患者對於藥物治療的順從性可能相較於女性患者較為良好；相對地，其疾病活動程度與身心舒適狀態之改善程度也較佳。一項先前的縱貫式研究顯示每週至少進行 5 天並且每天至少從事 30 分鐘以上的休閒運動或背部運動，可有效地改善僵直性脊椎炎患者疼痛、僵硬與功能障礙之情形 [37]，在我們的觀察中，具有運動習慣的僵直性脊椎炎患者呈現預後較佳的疾病活動程度以及身心舒適狀態；病患的運動習慣與其性別、脊椎活動範圍受限、發炎程度以及併發發炎性腸道疾病可能具有相關性。因此，在我們的多變項模式中調整相互的效應後，僅觀察到運動習慣對於僵直性脊椎炎患者之疾病活動程度與身心舒適狀態變化呈現邊際顯著效應。此外，我們亦觀察到追蹤年數是相關於僵直性脊椎炎患者預後的疾病活動程度及身心舒適狀態之改善，這可能反應著被我們研究追蹤之患者是較積極地在接受藥物治療與控制所致。

這個研究具有一些限制，當僵直性脊椎炎病患不論處於急性期或非急性期，皆被納入為現今研究

的研究對象，因此，我們的研究可能會導致選樣偏差 (selection bias)。此外，我們的研究資料是收集自單一醫學中心，可能會有引介偏差 (referral bias) 存在。回憶偏差 (recall bias) 有可能會發生，我們的研究中同時施測三項不同的評估量表，因此，BASDAI、BASFI 與 BAS-G 量表不可能產生回憶偏差。

我們的結論是性別、初始發病年齡、及有無周邊關節炎症狀是相關於僵直性脊椎炎病患臨床症狀的表現。隨著僵直性脊椎炎病程不斷地進展，我們也發現於五年的追蹤期間，僵直性脊椎炎患者的疾病活動程度與身心舒適狀態是隨著時間逐漸地獲得改善，其身體功能狀態是相對地維持不變；性別、發炎性腸道疾病、腰椎活動度、與體內發炎程度亦可能為僵直性脊椎炎患者疾病進展變化的預測指標。

參考文獻

1. **Sieper J**, Braun J, Rudwaleit M, *et al.* Ankylosing spondylitis: an overview. *Ann Rheum Dis* 2002;**61**:iii8-18.
2. **van der Linden S**, van der Heijde D. Ankylosing spondylitis. Clinical features. *Rheum Dis Clin North Am* 1998;**24**:663-76.
3. **Calin A**, Brophy S, Blake D. Impact of sex on inheritance of ankylosing spondylitis: a cohort study. *Lancet* 1999;**354**:1687-90.
4. **Brophy S**, Calin A. Ankylosing spondylitis: interaction between genes, joints, age at onset, and disease expression. *J Rheumatol* 2001;**28**:2283-8.
5. **Kennedy LG**, Will R, Calin A. Sex ratio in the spondyloarthropathies and its relationship to phenotypic expression, mode of inheritance and age at onset. *J Rheumatol* 1993;**20**:1900-4.
6. **Brewerton DA**, Hart FD, Nicholls A, *et al.* Ankylosing spondylitis and HL-A 27. *Lancet* 1973;**1**:904-7.
7. **Khan MA**, Kushner I, Braun WE. Comparison of clinical features in HLA-B27 positive and negative patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 1977;**20**:909-12.
8. **Little H**. The natural history of ankylosing spondylitis. *J Rheumatol* 1988;**15**:1179-80.
9. **Garrett S**, Jenkinson T, Kennedy LG, *et al.* A new approach to defining disease status in ankylosing spondylitis: the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index. *J Rheumatol* 1994;**21**:2286-91.
10. **Calin A**, Garrett S, Whitelock H, *et al.* A new approach to defining functional ability in ankylosing spondylitis: the development of the Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index. *J Rheumatol* 1994;**21**:2281-5.
11. **Jones SD**, Steiner A, Garrett SL, *et al.* The Bath Ankylosing Spondylitis Patient Global Score (BAS-G). *Br J Rheumatol* 1996;**35**:66-71.
12. **van der Heijde D**, Calin A, Dougados M, *et al.* Selection of instruments in the core set for DC-ART, SMARD, physical therapy, and clinical record keeping in ankylosing spondylitis. Progress report of the ASAS Working Group. Assessments in Ankylosing Spondylitis. *J Rheumatol* 1999;**26**:951-4.
13. **Falkenbach A**, Franke A, van der Linden S. Factors associated with body function and disability in patients with ankylosing spondylitis: a cross-sectional study. *J Rheumatol* 2003;**30**:2186-92.
14. **Ruof J**, Stuckl G. Validity aspects of erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein in ankylosing spondylitis: a literature review. *J Rheumatol* 1999;**26**:966-70.
15. **Robertson LP**, Davis MJ. A longitudinal study of disease activity and functional status in a hospital cohort of patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatology* 2004;**43**:1565-8.
16. **Heikkila S**, Viitanen JV, Kautiainen H, *et al.* Functional long-term changes in patients with spondylarthritis. *Clin Rheumatol* 2002;**21**:119-22.
17. **Swinkels A**, Dolan P. Spinal position sense and disease progression in ankylosing spondylitis: a longitudinal study. *Spine* 2004;**29**:1240-5.
18. **Zeng QY**. Ankylosing spondylitis in Shantou, China: 15 years' clinical experience. *J Rheumatol* 2003;**30**:1816-21.
19. **Claudepierre P**, Sibilia J, Roudot-Thoraval F, *et al.* Factors linked to disease activity in a French cohort of patients with spondyloarthritis. *J Rheumatol* 1998;**25**:1927-31.
20. **van der Linden S**, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria. *Arthritis Rheum* 1984;**27**:361-8.
21. **Wei JC**, Wong RH, Huang JH, *et al.* Evaluation of internal consistency and re-test reliability of Bath ankylosing spondylitis indices in a large cohort of adult and juvenile spondylitis patients in Taiwan. *Clin Rheumatol* 2007;**26**:1685-91.
22. **Viitanen JV**, Heikkila S, Kokko ML, *et al.* Clinical assessment of spinal mobility measurements in

- ankylosing spondylitis: a compact set for follow-up and trials?. *Clin Rheumatol* 2000;**19**:131-7.
23. **Haywood KL**, Garratt AM, Jordan K, *et al.* Spinal mobility in ankylosing spondylitis: reliability, validity and responsiveness. *Rheumatology* 2004;**43**:750-7.
 24. **Chou CT**, Tsai YF, Liu J, *et al.* The detection of the HLA-B27 antigen by immunomagnetic separation and enzyme-linked immunosorbent assay-comparison with a flow cytometric procedure. *J Immunol Methods* 2001;**255**:15-22.
 25. **Lee W**, Reveille JD, Davis JC Jr, *et al.* Are there gender differences in severity of ankylosing spondylitis? Results from the PSOAS cohort. *Ann Rheum Dis* 2007;**66**:633-8.
 26. **Guillemin F**, Briancon S, Pourel J, *et al.* Long-term disability and prolonged sick leaves as outcome measurements in ankylosing spondylitis. Possible predictive factors. *Arthritis Rheum* 1990;**33**:1001-6.
 27. **Gran JT**, Ostensen M, Husby G. A clinical comparison between males and females with ankylosing spondylitis. *J Rheumatol* 1985;**12**:126-9.
 28. **Dagfinrud H**, Kjekken I, Mowinckel P, *et al.* Impact of functional impairment in ankylosing spondylitis: impairment, activity limitation, and participation restrictions. *J Rheumatol* 2005;**32**:516-23.
 29. **Porcher R**, Said-Nahal R, D'Agostino MA, *et al.* Two major spondylarthropathy phenotypes are distinguished by pattern analysis in multiplex families. *Arthritis Rheum* 2005;**53**:263-71.
 30. **Said-Nahal R**, Miceli-Richard C, D'Agostino MA, *et al.* Phenotypic diversity is not determined by independent genetic factors in familial spondylarthropathy. *Arthritis Rheum* 2001;**45**:478-84.
 31. **Caplanne D**, Tubach F, Le Parc JM. Late onset spondylarthropathy: clinical and biological comparison with early onset patients. *Ann Rheum Dis* 1997;**56**:176-9.
 32. **Heuft-Dorenbosch L**, van Tubergen A, Spoorenberg A, *et al.* The influence of peripheral arthritis on disease activity in ankylosing spondylitis patients as measured with the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index. *Arthritis Rheum* 2004;**51**:154-9.
 33. **Lee HS**, Kim TH, Yun HR, *et al.* Radiologic changes of cervical spine in ankylosing spondylitis. *Clin Rheumatol* 2001;**20**:262-6.
 34. **Braun J**, Bollow M, Sieper J. Radiologic diagnosis and pathology of the spondyloarthropathies. *Rheum Dis Clin North Am* 1998;**24**:697-735.
 35. **Dougados M**, Gueguen A, Nakache JP, *et al.* Clinical relevance of C-reactive protein in axial involvement of ankylosing spondylitis. *J Rheumatol* 1999;**26**:971-4.
 36. **Mielants H**, Veys EM, Cuvelier C, *et al.* The evolution of spondyloarthropathies in relation to gut histology. III. Relation between gut and joint. *J Rheumatol* 1995;**22**:2279-84.
 37. **Uhrin Z**, Kuzis S, Ward MM. Exercise and changes in health status in patients with ankylosing spondylitis. *Arch Intern Med* 2000;**160**:2969-75.

表 3-1：僵直性脊椎炎病患之基本人口學特徵、運動習慣、個人及家族疾病史、藥物使用狀況、HLA-B27 基因、巴斯僵直性脊椎炎評估量表、理學檢查與血液生化指標於不同性別分組間之分佈

變項	男性 (n = 778)	女性 (n = 307)	全部 (n = 1085)
基本人口學特徵			
年齡 (歲)	35.2 ± 10.3	36.3 ± 10.6	35.5 ± 10.4
首次症狀發病年齡 (歲)	26.7 ± 9.3	30.3 ± 10.0**	27.7 ± 9.6
病程 (自症狀發生, 年)	8.5 ± 8.1	6.0 ± 7.1*	7.8 ± 7.9
病程 (自診斷開始, 年)	4.6 ± 6.3	2.1 ± 3.4**	3.9 ± 5.8
運動習慣 (%)	316 (40.6)	96 (31.3)**	412 (38.0)
個人疾病史			
周邊關節炎 (%)	421 (54.1)	158 (51.5)	579 (53.4)
虹彩炎 (%)	170 (21.9)	67 (21.8)	237 (21.8)
發炎性腸道疾病 (%)	53 (6.8)	18 (5.9)	71 (6.5)
乾癬 (%)	99 (12.7)	24 (7.8)*	123 (11.3)
家族疾病史 (%)	294 (37.8)	152 (49.5)**	446 (41.1)
藥物使用狀況			
NSAIDs (%)	284 (36.5)	91 (29.6)*	375 (34.6)
DMARDs (%)	212 (27.2)	67 (21.8)	279 (25.7)
HLA-B27 基因 (陽性%, n = 1074)	686 (90.0)	262 (87.6)	948 (89.4)
巴斯僵直性脊椎炎評估量表			
BASDAI (cm)	4.1 ± 2.2	4.1 ± 2.3	4.1 ± 2.2
BASFI (cm)	2.2 ± 2.2	1.7 ± 2.0**	2.1 ± 2.2
BAS-G (cm)	4.4 ± 2.8	4.1 ± 2.9	4.3 ± 2.8
理學檢查			
枕骨至牆壁距離 (cm, n = 1033)	2.2 ± 5.1	0.3 ± 1.3**	1.6 ± 4.5
指尖離地距離 (cm, n = 1034)	18.2 ± 14.8	10.6 ± 11.3**	16.0 ± 14.3
腰椎彎曲試驗 (cm, n = 1019)	4.9 ± 3.3	5.7 ± 3.5**	5.1 ± 3.3
側向彎曲試驗 (cm, n = 1029)	14.8 ± 10.8	15.9 ± 8.2	15.1 ± 10.1
胸部擴張試驗 (cm, n = 1032)	4.1 ± 2.1	4.0 ± 2.0	4.0 ± 2.1
血液生化指標			
ESR (mm/1hr, n = 1063)	22.1 ± 19.7	23.6 ± 16.4	22.5 ± 18.9
CRP (mg/dl, n = 1068)	1.4 ± 1.8	0.5 ± 1.2**	1.1 ± 1.7
IgA (mg/dl, n = 1050)	328.3 ± 154.0	274.8 ± 106.9**	313.1 ± 144.2

*0.01 < P < 0.05, **P < 0.01。

表 3-2：僵直性脊椎炎病患之基本人口學特徵、運動習慣、個人及家族疾病史、藥物使用狀況、HLA-B27 基因、巴斯僵直性脊椎炎評估量表、理學檢查與血液生化指標於不同首次症狀發病年齡分組間之分佈

變項	< 20 歲 (n = 215)	20-29 歲 (n = 503)	≥ 30 歲 (n = 367)
基本人口學特徵			
性別 (男%)	172 (80.0)	380 (75.6)	226 (61.6)*
年齡 (歲)	29.2 ± 9.7	31.9 ± 7.8	44.1 ± 8.1**
病程 (自症狀發生, 年)	11.5 ± 9.8	8.1 ± 7.6	5.2 ± 6.1**
病程 (自診斷開始, 年)	6.3 ± 7.8	3.9 ± 5.3	2.5 ± 4.3**
運動習慣 (%)	84 (39.1)	175 (34.8)	153 (41.7)
個人疾病史			
周邊關節炎 (%)	137 (63.7)	277 (55.1)	165 (45.0)**
虹彩炎 (%)	55 (25.6)	108 (21.5)	74 (20.2)
發炎性腸道疾病 (%)	17 (7.9)	36 (7.2)	18 (4.9)
乾癬 (%)	19 (8.8)	67 (13.3)	37 (10.1)
家族疾病史 (%)	102 (47.4)	213 (42.4)	131 (35.7)*
藥物使用狀況			
NSAIDs (%)	76 (35.4)	193 (38.4)	106 (28.9)*
DMARDs (%)	60 (27.9)	145 (28.8)	74 (20.2)*
HLA-B27 基因 (陽性%, n = 1074)	191 (90.1)	456 (92.5)	301 (84.6)**
巴斯僵直性脊椎炎評估量表			
BASDAI (cm)	4.1 ± 2.2	4.3 ± 2.2	3.8 ± 2.3*
BASFI (cm)	2.2 ± 2.2	2.0 ± 2.2	2.0 ± 2.1
BAS-G (cm)	4.5 ± 2.8	4.4 ± 2.8	4.0 ± 2.8*
理學檢查			
枕骨至牆壁距離 (cm, n = 1033)	2.1 ± 5.5	1.7 ± 4.4	1.3 ± 3.9
指尖離地距離 (cm, n = 1034)	16.3 ± 14.7	16.4 ± 14.5	15.3 ± 13.8
腰椎彎曲試驗 (cm, n = 1019)	5.1 ± 3.4	5.1 ± 3.5	5.0 ± 3.1
側向彎曲試驗 (cm, n = 1029)	15.0 ± 10.7	15.5 ± 10.0	14.6 ± 10.0
胸部擴張試驗 (cm, n = 1032)	4.0 ± 2.0	4.0 ± 2.1	4.0 ± 2.2
血液生化指標			
ESR (mm/1hr, n = 1063)	21.8 ± 18.7	22.1 ± 18.4	23.5 ± 19.5
CRP (mg/dl, n = 1068)	1.2 ± 1.7	1.2 ± 1.8	1.0 ± 1.5
IgA (mg/dl, n = 1050)	311.3 ± 130.0	314.7 ± 156.1	311.9 ± 135.1

*0.01 < P < 0.05, **P < 0.01。

表 3-3：僵直性脊椎炎病患之基本人口學特徵、運動習慣、個人及家族疾病史、藥物使用狀況、HLA-B27 基因、巴斯僵直性脊椎炎評估量表、理學檢查與血液生化指標於不同周邊關節炎分組間之分佈

變項	有周邊關節炎 (n = 579)	無周邊關節炎 (n = 506)
基本人口學特徵		
性別 (男%)	421 (72.7)	357 (70.6)
年齡 (歲)	35.8 ± 10.0	35.1 ± 10.8
首次症狀發病年齡 (歲)	26.4 ± 9.0	29.2 ± 10.1**
病程 (自症狀發生, 年)	9.4 ± 8.4	5.9 ± 7.0**
病程 (自診斷開始, 年)	4.8 ± 6.3	2.9 ± 4.9**
運動習慣 (%)	246 (42.5)	166 (32.8)*
個人疾病史 (%)		
虹彩炎 (%)	170 (29.4)	67 (13.2)**
發炎性腸道疾病 (%)	56 (9.7)	15 (3.0)**
乾癬 (%)	87 (15.0)	36 (7.1)**
家族疾病史 (%)	237 (40.9)	209 (41.3)
藥物使用狀況		
NSAIDs (%)	256 (44.2)	119 (23.5)**
DMARDs (%)	198 (34.2)	81 (16.0)**
HLA-B27 基因 (陽性%, n = 1074)	510 (89.3)	438 (89.4)
巴斯僵直性脊椎炎評估量表		
BASDAI (cm)	4.3 ± 2.2	3.8 ± 2.3**
BASFI (cm)	2.4 ± 2.3	1.6 ± 1.9**
BAS-G (cm)	4.7 ± 2.8	3.8 ± 2.8**
理學檢查		
枕骨至牆壁距離 (cm, n = 1033)	1.9 ± 4.8	1.3 ± 4.0*
指尖離地距離 (cm, n = 1034)	16.9 ± 14.8	15.0 ± 13.7*
腰椎彎曲試驗 (cm, n = 1019)	5.0 ± 3.5	5.2 ± 3.2
側向彎曲試驗 (cm, n = 1029)	15.6 ± 11.7	14.6 ± 8.0
胸部擴張試驗 (cm, n = 1032)	4.0 ± 2.0	4.0 ± 2.2
血液生化指標		
ESR (mm/1hr, n = 1063)	26.0 ± 20.2	18.6 ± 16.4**
CRP (mg/dl, n = 1068)	1.4 ± 1.9	0.8 ± 1.4**
IgA (mg/dl, n = 1050)	324.2 ± 158.5	300.4 ± 125.0**

*0.01 < P < 0.05, **P < 0.01。

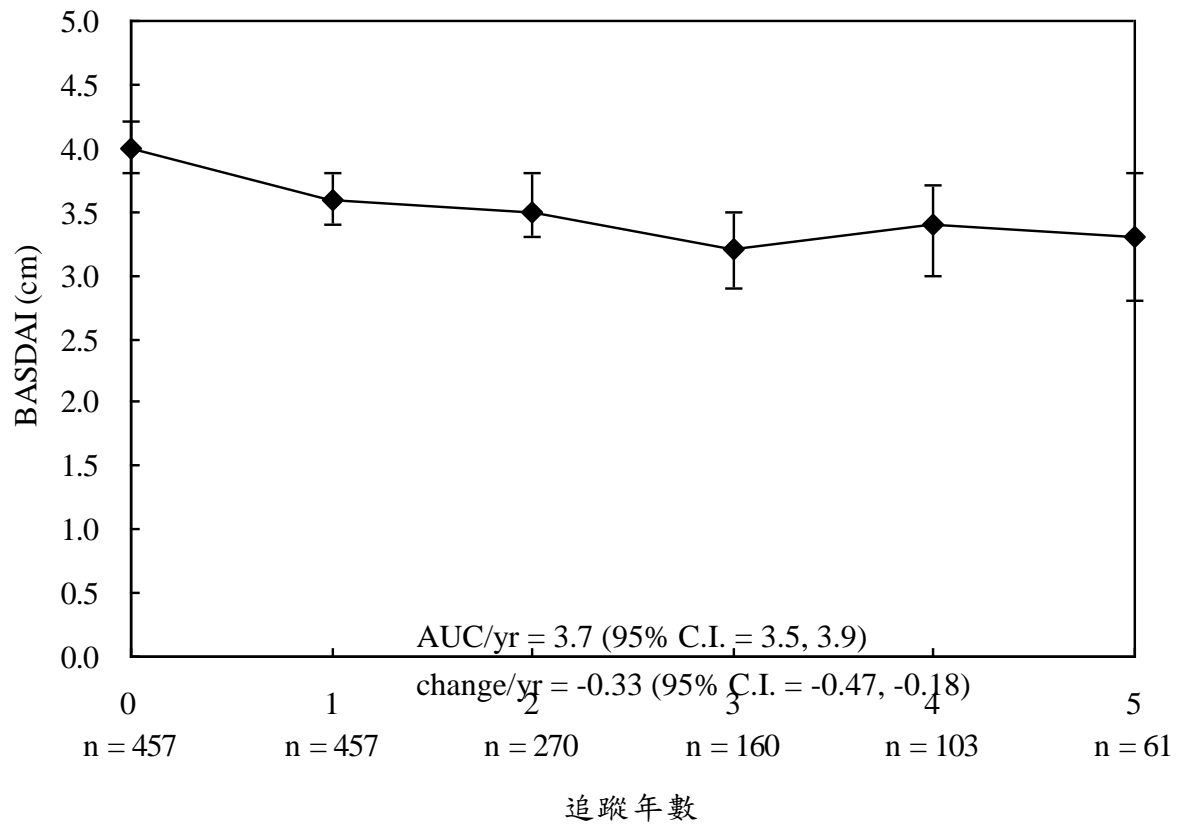
表 3-4：以一般線性混合模式分析影響病患長期疾病活動程度變化 (BASDAI) 之因素

變項	模式一			模式二		
	迴歸 係數	標準誤	<i>P</i>	迴歸 係數	標準誤	<i>P</i>
截距項	4.4	0.6	< 0.001	3.3	0.2	< 0.001
性別 (男性 vs. 女性)	-0.5	0.2	0.011	-0.5	0.2	0.003
年齡 (歲)	-0.005	0.02	0.758			
首次症狀發病年齡 (年)	-0.02	0.02	0.247			
病程 (自診斷開始, 年)	-0.02	0.02	0.330			
運動習慣 (有 vs. 無)	-0.5	0.2	0.012	-0.3	0.2	0.061
周邊關節炎 (有 vs. 無)	-0.05	0.2	0.795			
虹彩炎 (有 vs. 無)	0.09	0.2	0.653			
發炎性腸道疾病 (有 vs. 無)	1.1	0.3	< 0.001	1.2	0.3	< 0.001
乾癬 (有 vs. 無)	-0.2	0.2	0.405			
家族疾病史 (有 vs. 無)	-0.04	0.2	0.798			
NSAIDs (有 vs. 無)	0.1	0.2	0.658			
DMARDs (有 vs. 無)	0.1	0.2	0.485			
HLA-B27 基因 (陽性 vs. 陰性)	-0.2	0.3	0.525			
枕骨至牆壁距離 (cm)	-0.01	0.02	0.501			
指尖離地距離 (cm)	0.03	0.005	< 0.001	0.04	0.005	< 0.001
腰椎彎曲試驗 (cm)	-0.01	0.02	0.470			
側向彎曲試驗 (cm)	-0.005	0.005	0.291			
胸部擴張試驗 (cm)	-0.05	0.03	0.106			
ESR (mm/1hr)	0.008	0.005	0.104			
CRP (mg/dl)	0.2	0.05	< 0.001	0.3	0.036	< 0.001
IgA (mg/dl)	0.001	0.001	0.305			
追蹤年數 (年)	-0.1	0.04	< 0.001	-0.2	0.034	< 0.001

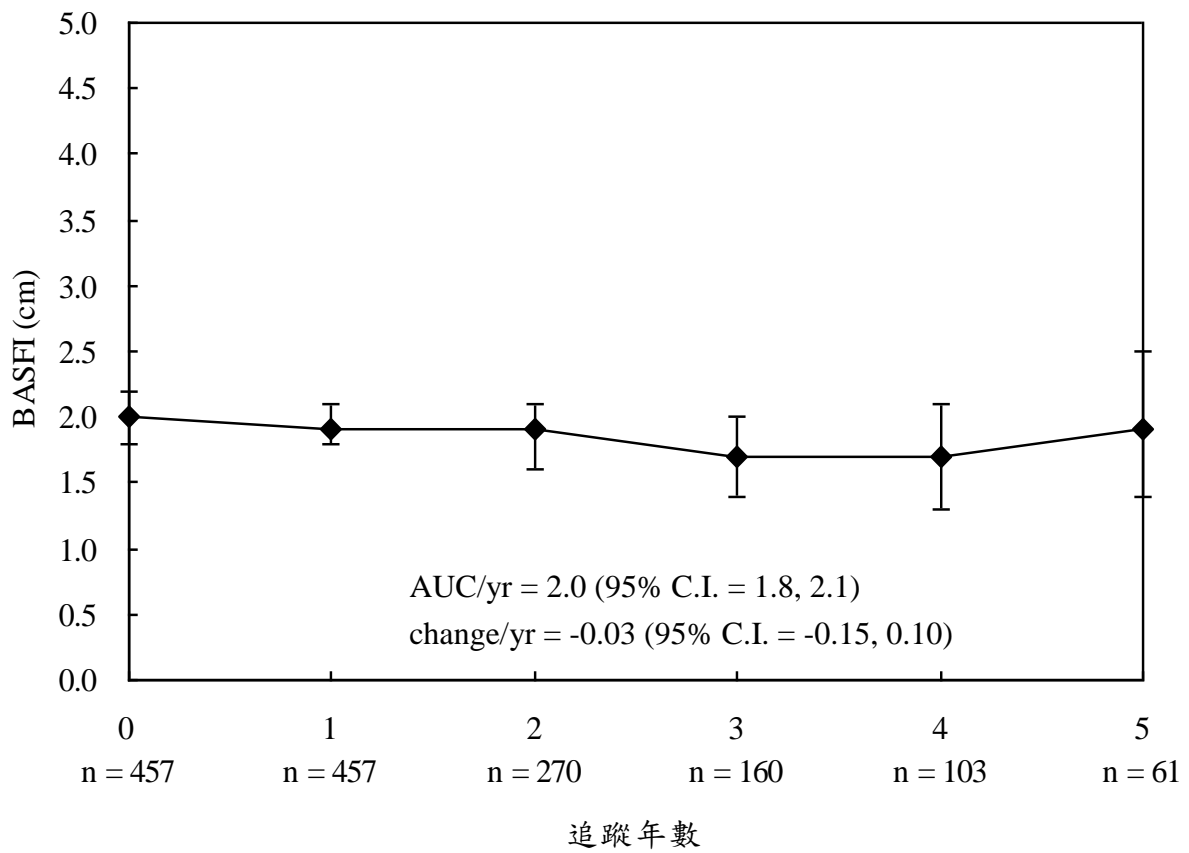
表 3-5：以一般線性混合模式分析影響病患長期整體身心舒適狀態變化 (BAS-G) 之因素

變項	模式一			模式二		
	迴歸 係數	標準誤	<i>P</i>	迴歸 係數	標準誤	<i>P</i>
截距項	3.5	0.7	< 0.001	3.3	0.2	< 0.001
性別 (男性 vs. 女性)	-0.5	0.2	0.025	-0.6	0.2	0.005
年齡 (歲)	-0.005	0.02	0.781			
首次症狀發病年齡 (年)	-0.01	0.02	0.624			
病程 (自診斷開始起算, 年)	-0.02	0.02	0.364			
運動習慣 (有 vs. 無)	-0.5	0.2	0.021	-0.4	0.2	0.081
周邊關節炎 (有 vs. 無)	0.05	0.2	0.807			
虹彩炎 (有 vs. 無)	0.3	0.2	0.144			
發炎性腸道疾病 (有 vs. 無)	0.5	0.4	0.162			
乾癬 (有 vs. 無)	-0.4	0.3	0.140			
家族疾病史 (有 vs. 無)	-0.03	0.2	0.899			
NSAIDs (有 vs. 無)	0.1	0.2	0.593			
DMARDs (有 vs. 無)	0.3	0.2	0.221			
HLA-B27 基因 (陽性 vs. 陰性)	-0.09	0.4	0.819			
枕骨至牆壁距離 (cm)	0.05	0.02	0.020	0.05	0.02	0.009
指尖離地距離 (cm)	0.04	0.007	< 0.001	0.05	0.006	< 0.001
腰椎彎曲試驗 (cm)	-0.01	0.02	0.571			
側向彎曲試驗 (cm)	-0.003	0.006	0.639			
胸部擴張試驗 (cm)	-0.03	0.03	0.416			
ESR (mm/1hr)	0.006	0.006	0.316			
CRP (mg/dl)	0.2	0.06	< 0.001	0.3	0.04	< 0.001
IgA (mg/dl)	0.001	0.001	0.067			
追蹤年數 (年)	-0.2	0.05	0.001	-0.2	0.04	< 0.001

(a)



(b)



(c)

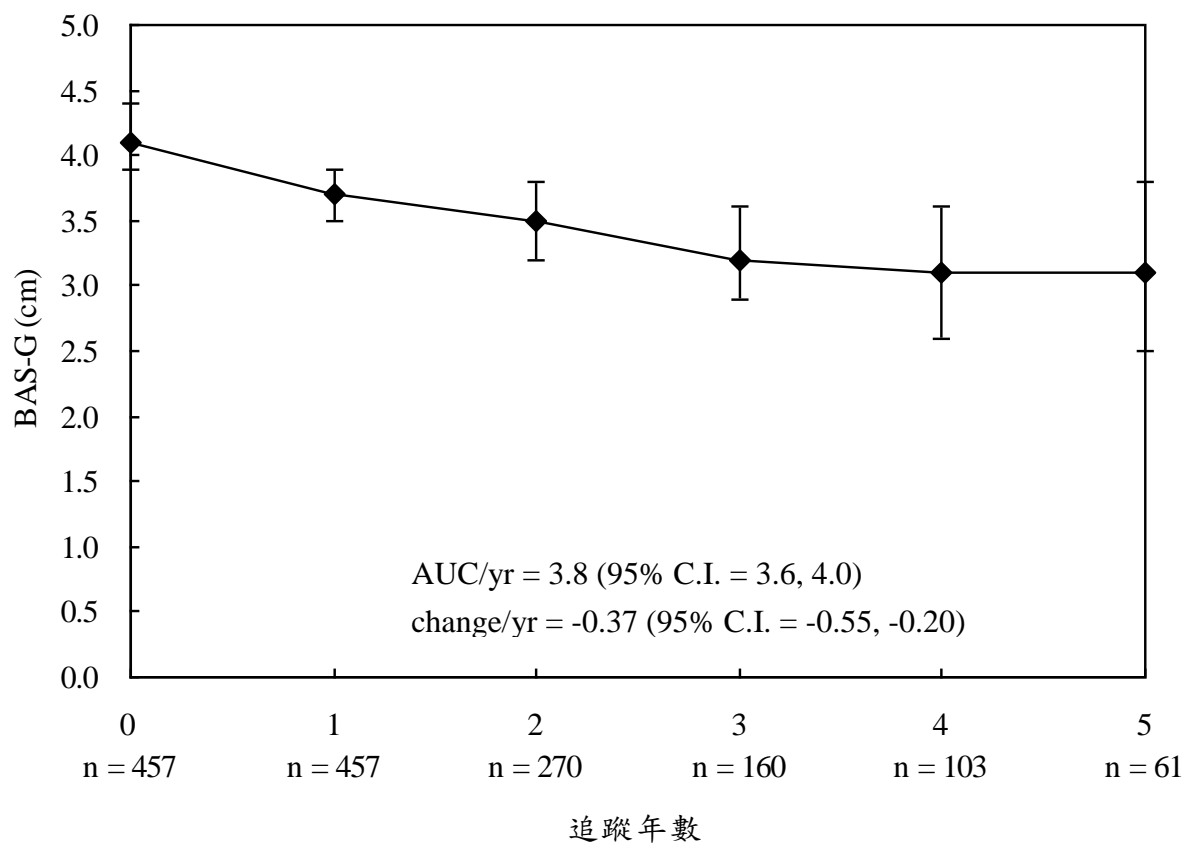


圖 3-1：僵直性脊椎炎病患於追蹤期間內 BASDAI (a)、BASFI (b)、BAS-G (c) 量表分數之變化情形 (mean ± 95% C.I.)、每年曲線下面積以及每年改變量。

第四章 蝕骨細胞抑制因子基因多形性與僵直性脊椎炎的初始症狀發病年齡

摘要

骨質疏鬆是僵直性脊椎炎 (ankylosing spondylitis ; AS) 的一項可辨別之徵狀。已知細胞核因子 kB 接受器活化因子配位基 (receptor activator for nuclear factor kappa B ligand ; RANKL) 結合於細胞核因子 kB 接受器活化因子 (receptor activator of nuclear factor kappa B ; RANK), 可導致骨蝕作用的活化; 而蝕骨細胞抑制因子 (osteoprotegerin ; OPG) 也與 RANK 競爭來與 RANKL 結合以及抑制骨吸收作用。因此, 我們設計一項病例對照研究來評估僵直性脊椎炎的發生及其臨床表徵與 RANK、RANKL、以及 OPG 基因多形性之相關。總計, 有 330 名僵直性脊椎炎病患與 330 名以性別與年齡配對的健康對照被納入, 聚合酶鏈鎖反應-限制片段長度多形性 (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism) 被運用來判定 RANK C575T、RANKL C-290T、與 OPG G1181C 基因多形性。結果顯示 OPG GG 基因型攜帶者相較於 GC 與 CC 基因型者具有增加的僵直性脊椎炎發生危險 (matched odds ratio 1.74, 95% confidence interval 1.26-2.40)。此外, 初始症狀發病年齡與周邊關節炎之比例在 OPG G1181C 基因型之僵直性脊椎炎病患中具有顯著差異。攜帶 OPG C 對偶基因之 HLA-B27 陽性病患具有最早的初始症狀發病年齡 [平均值 (標準差) 26.6 (9.6) 歲], 其次為攜帶 OPG G 對偶基因之 HLA-B27 陽性病患 [32.6 (12.2) 歲]、攜帶 OPG G 對偶基因之 HLA-B27 陰性病患 [38.1 (13.6) 歲]、與攜帶 OPG C 對偶基因之 HLA-B27 陰性病患 [38.6 (9.8) 歲]。因此, OPG G1181C 基因多形性可能是相關於僵直性脊椎炎之發展與臨床表徵。

關鍵詞：初始症狀發病年齡、僵直性脊椎炎、蝕骨細胞抑制因子、基因多形性

前言

僵直性脊椎炎 (ankylosing spondylitis ; AS) 是脊椎關節與髖關節的慢性發炎疾病, 也會影響到周邊關節 [1]; 男性罹病比例高於女性 [2], 並且僵直性脊椎炎的發展尚未完全被釐清。僵直性脊椎炎與人類白血球抗原 (human leukocyte antigen ; HLA) -B27 具有高度的相關性 [3], 但是 HLA-B27 僅在僵直性脊椎炎之基因變異上貢獻 16% [4]。

脊椎的骨質疏鬆與骨折是僵直性脊椎炎的可辨別徵狀 [5, 6], 骨質疏鬆是由透過蝕骨細胞的骨蝕作用 (bone resorption) 大於透過造骨細胞的成骨作用 (bone formation) 所導致 [7]。骨質重塑 (bone modelling) 是透過由細胞核因子 kB 接受器活化因子配位基 (receptor activator for nuclear factor kappa B ligand ; RANKL)、細胞核因子 kB 接受器活化因子 (receptor activator of nuclear factor kappa B ; RANK)、與蝕骨細胞抑制因子 (osteoprotegerin ; OPG) 路徑的蝕骨細胞和造骨細胞之交互作用所調控 [8], 由造骨細胞所產生的 RANKL 結合於蝕骨細胞前驅細胞表面上的 RANK, 可導致蝕骨細胞的分化與成熟、以及骨蝕作用的進一步活化 [9, 10]。OPG 是腫瘤壞死因子 (tumor necrosis factor ; TNF) 接受器超級家族的一員 [11], 與 RANKL 結合可藉由抑制蝕骨細胞的分化與成熟, 並且誘導蝕骨細胞的細胞凋亡來調控骨蝕作用 [12-14]。OPG 缺陷的小鼠發展出嚴重的骨質疏鬆 [15], 然而 OPG 過度表現的基因轉殖小鼠則產生明顯的骨石化症 (osteopetrosis) [11]。

人類 RANKL 基因是位於染色體 13q14 位置 [16], 在 RANKL 啟動子區域的結構變異可能改變不同轉錄因子的結合 [17]。RANK C575T 基因型 (rs1805034) 是在 exon 6 的唯一非同義多形性 (位於染色體 18q22.1), 導致由纈氨酸 (valine) 改變成丙氨酸 (alanine) 的氨基酸變異, 並且如此可能影響到蛋白產物 [18, 19]。RANKL 與 RANK 的結合在蝕骨細胞的活化和分化上是關鍵的角色, 所以 RANKL C-290T 和 RANK C575T 多形性是僵直性脊椎炎發生的可能標記。人類 OPG 基因是位於染色體 8q24 位置 [20], 在其 exon 1 中的 G1181C 基因型導致訊息勝肽的第三個氨基酸由離氨酸 (lysine ; Lys) 改變成天門冬素 (asparagine ; Asn) [21]; 而此是訊息勝肽上唯一已知的非同義多形性, 影響了 OPG 的細胞分泌 [22]。OPG 與 RANK 競爭以抑制蝕骨細胞的活化, 並且在骨蝕作用中扮演著預防的角色; 因此, OPG 可能在僵直性脊椎炎的致病機轉中是重要的。

在現今的研究中, 我們檢驗僵直性脊椎炎的發生與 RANK C575T、RANKL C-290T、以及 OPG

G1181C 基因多形性的相關。在僵直性脊椎炎病患中的基因因子對於疾病嚴重程度和併發症可能有很大的貢獻性 [23]，具有較早初始症狀發病年齡之病患也有較多的併發症和較嚴重的疾病 [24]；然而，基因因子和僵直性脊椎炎的初始症狀發病年齡之相關性尚未被評估，僵直性脊椎炎的併發症可能也相關於基因因子 [25, 26]。因此，我們也評估臨床徵狀與 RANK、RANKL、以及 OPG 基因多形性的關係。

材料與方法 病患和對照

此研究符合赫爾辛基宣言，並且經過台灣台中的中山醫學大學附設醫院人體試驗委員會的批准。符合篩選條件的病患均是從 2004 年 5 月至 2008 年 9 月間於醫院免疫風濕科門診被邀請來參與本研究，在收集研究對象的任何資料之前，我們會先獲得研究對象的同意書。病患的篩選條件為：(1) 年齡大於 18 歲，(2) 僵直性脊椎炎的診斷需符合修飾過的 New York 準則 [27]，(3) 可講流利的中文，以及 (4) 無明確認知功能障礙 (如癡呆)。薦腸骨關節炎 (sacroiliitis) 是經由合格的放射科醫師的確認，並且僵直性脊椎炎是經由一位合格的免疫風濕科醫師確診。總計，330 名非親屬關係的僵直性脊椎炎病患被納入。詳細的臨床史是由一名醫師在收集病患時所獲取，包括初始症狀發病年齡、僵直性脊椎炎家族史、以及脊椎關節外的相關併發症。僵直性脊椎炎初始症狀發病年齡被定義為首次症狀的發病時間，無論它是脊椎症狀 (axial symptom)、周邊關節炎、虹彩炎 (uveitis) 或接骨點發炎 (enthesitis)。周邊關節炎被定義為至少有一個腫脹的關節呈現。在樣本收集的期間，一般的健康問卷也被執行以發掘可作為對照的個人；潛在的對象是從無明顯的疾病史或異常的實驗室檢查結果之對象中選取，這些人是於相同醫學中心來執行一般健康檢查，並且與病例來自相同的地區。一項 1:1 的病例與對照之配對比例被使用，對照是以病例之年齡 (± 5 歲) 與性別所配對；共有 330 名僵直性脊椎炎病患與 330 名對照提供知情同意書，並且被納入分析。

HLA-B27 狀態和 RANK、RANKL、以及 OPG 基因多形性

周邊血液在醫療執行時被收集，存放在 4°C 下，並且在同一天被處理。血液被離心分離成為血清和細胞，所有樣本被儲存於 -70°C 下直到分析。使用 AxyPrep™ Blood Genomic DNA Miniprep Kit (Axygen Scientific Corporation, Union City, CA) 來從周邊血液萃取基因體 DNA，HLA-B27 的狀態是依照先前研究所述以流式細胞儀來測定之 [28]。

所有研究對象的 RANK C575T、RANKL C-290T、與 OPG G1181C 基因型判定是以聚合酶鏈鎖反應-限制片段長度多形性 (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism; PCR-RFLP) 來辨識。RANK 基因型判定是依照 Hsu 等人 [18] 的方法所執行，用以增幅 RANK 基因的引發子序列為 5'-CTC TGC TCC TTT GCT GAC CGC AAT CTC AGA-3' 和 5'-GCA GAG AAG AAC TGC AAA CCG CGT CGG-3'，DNA (0.5 μ l) 被加入至包含有 200 ng 的引發子、1.5 mM MgCl₂、0.2 mM 之去氧核苷三磷酸 (dNTPs)、50 mM KCl、10 mM Tris-HCl (pH 8.3)、以及 0.1% 的胎牛血清白蛋白 (BSA) 的 PCR 緩衝溶液中，最終體積為 50 μ l。增幅是在以下條件中被執行：於 95°C 下一分鐘之變性、60°C 下一分鐘之重鍊、以及 72°C 下一分鐘之延展。而 PCR 產物在 60°C 下以 BstUI 消化十六小時，同型合子 TT 基因型的個體是具有 199 bp 以及 125 bp 的兩段產物片段，同型合子 CC 基因型的個體呈現 199 bp、104 bp、和 21 bp 的片段，而異型合子 CT 基因型的個體則具有所有四段片段。RANKL C-290T 基因多形性也是以 PCR-RFLP 分析來決定 [17]，用以增幅 RANKL 基因的引發子序列為 5'-CAA GAT GCA GAA ATA GGG ATT TGG GAA GG-3' 以及 5'-CTG GAG GTC CAA GAG ATG GGT TCA A-3'。被執行來增幅的條件如下：於 95°C 下執行一分鐘之變性、58°C 下一分鐘之重鍊、以及 72°C 下一分鐘之延展。PCR 產物再以 Hpy188III 於 65°C 下消化二十小時，同型合子 TT 基因型的個體擁有單一一段 294 bp 的產物片段，同型合子 CC 基因型的個體擁有 269 bp 以及 25 bp 的兩段片段，以及異型合子 CT 基因型的個體則具有所有三段片段。而所有研究對象均被觀察到為 RANK 575 C 對偶基因與 RANKL -290 C 對偶基因。OPG 多形性的判定是如先前所描述的方法來執行 [22]，在 exon 1 (codon 3) 上包含一個 Lys 至 Asn 置換的 147 bp 之片段被增幅，使用的啟動子為 5'-ACT TCC TGT TGC CGG GAC GCT A-3' 和 5'-TAC CAC GAG CGC GCA GCA CCT CA-3'。被執行來增幅的條件如下：於 95°C 下執行 30 秒之變性、60°C 下 45 秒之

重鍊、以及 72°C 下 30 秒之延展。PCR 產物在 55°C 下以 SmlI 消化二十小時，同型合子 GG 基因型個體擁有 147 bp 的單一段產物片段，同型合子的 CC 基因型個體擁有 123 以及 24 bp 兩段片段；而異型合子的 GC 基因型個體則有所有三段片段。所有研究對象的 10% 被執行直接定序以確認 PCR-RFLP 的結果。

統計分析

在台灣人中，並無有關於 RANKL C-290T 與 RANK C575T 基因多形性的頻率資料；因此，我們只能考慮 OPG G1181C 基因型去計算所需之樣本數。在第一型誤差 (α) 程度是 0.05，第二型誤差 (β) 程度是 0.2 之下，健康對照的 OPG G1181C GG 基因型頻率是 0.57 [21]，若欲偵測相對危險性 (relative risk; RR) 為 2.0，並且病例與對照配對比是 1.0，則所需病例之最小樣本數目是 266。因為少數研究對象可能會失去追蹤 (loss to follow up)，我們增加了額外的研究對象 (~20%)；最後，我們納入了 330 名病例與 330 名經由年齡與性別配對的對照。

藉由適合度檢定 (goodness-of-fit) 來比較所觀察到的 OPG 基因型之頻率與期望值以評定是否符合哈溫平衡 (Hardy-Weinberg equilibrium)； χ^2 -test 也被使用來檢定病例與對照組之間 OPG 基因型與對偶基因頻率的盛行率。條件式邏輯斯迴歸模式 (conditional logistic regression model) 被使用來計算 OPG 基因型在病例組與對照組之間的配對相對危險性 (matched relative risk; RR_m) 與 95% 信賴區間 (95% confidence interval; CI)。初始症狀發病年齡、疾病病程、和延誤診斷疾病期間分別在基因型和對偶基因之間的差異，是使用變異數分析 (analysis of variance; ANOVA) 和 t -test 來比較平均值；在不同的 OPG 對偶基因、HLA-B27、和性別之僵直性脊椎炎病患分組之間初始症狀發病年齡的差異，則是藉由 t -test 來判定。OPG 基因型在有無周邊關節炎、虹彩炎、和發炎性腸道疾病之僵直性脊椎炎病患中的分佈，則是以 χ^2 -test 或 Fisher's exact test 來驗證。多變項非條件式邏輯斯迴歸模式被建構於調整可能干擾因子之效應後，來獲得 OPG 基因型對於臨床徵狀的調整後勝算比 (odds ratio; OR) 與相對應的 95% 信賴區間。 P 值被藉由 Bonferroni-Holm 程序所進行之多重比較所調整，所有的 P 值是以雙尾檢定來計算，並且 $P < 0.05$ 被視為統計顯著性。全部的分析是使用 SAS 9.1 (SAS Institute, Cary, NC) 視窗軟體。

結果

病例與對照的平均 (標準差) 年齡分別為 43.7 (10.2) 與 44.5 (10.6) 歲 (表 4-1)，大約有 70% 是男性。在僵直性脊椎炎患者之中，45.5% 具有僵直性脊椎炎家族病史；平均初始症狀發病年齡是 32.2 歲，平均疾病病程是 11.5 年，以及延誤診斷疾病之平均時間是 5.5 年。在僵直性脊椎炎患者之中，46.1% 被診斷具有周邊關節炎、28.8% 具有虹彩炎、以及 4.5% 具有發炎性腸道疾病。總計，91.5% ($n = 302$) 的僵直性脊椎炎病患為 HLA-B27 陽性 ($n = 302$)。

研究對象的 RANK、RANKL、以及 OPG 基因型與對偶基因頻率，被呈現於表 4-2。所有研究對象均是 RANK 575C 和 RANKL -290C 對偶基因。在對照中，OPG G1181C 之 GG、GC、與 CC 基因型的比例分別是 57.6%、38.2%、與 4.2%，並且符合哈溫平衡。OPG CC 基因型者的個數較少，因此在後續的分析中被與 OPG GC 合併在一起。攜帶 OPG 同型合子 GG 基因型相較於攜帶 GC 與 CC 基因型者具有 1.74 倍 (95% CI 1.26-2.40) 的僵直性脊椎炎之較高危險，OPG G 對偶基因相較於 C 對偶基因也是相對於較高的僵直性脊椎炎危險 (RR_m 1.59; 95% CI 1.21-2.09)。

在表 4-3 中，我們分析僵直性脊椎炎病患其初始症狀發病年齡、疾病病程、和延誤診斷疾病時間在不同 OPG 基因型與對偶基因分組之中的差異。初始症狀發病年齡在 OPG GG 基因型 [34.0 (12.6) 歲] 中相較於 GC [28.4 (10.6) 歲] 或 CC 基因型 [23.8 (7.4) 歲] 是較大的 ($P < 0.001$)；較大的初始症狀發病年齡也在 OPG G 對偶基因攜帶者中被觀察到。

僵直性脊椎炎病患其初始症狀發病年齡在性別 [男性：31.1 (12.8) vs. 女性：34.7 (10.6), $P = 0.010$; t -test] 與 HLA-B27 [陽性：31.6 (12.1) vs. 陰性：38.2 (13.0), $P = 0.007$] 分組之中也是不同的；因此，我們分析不同的 HLA-B27、OPG 對偶基因、以及性別分組之中僵直性脊椎炎病患的初始症狀發病年齡 (圖 4-1)。攜帶 HLA-B27⁺ 與 OPG C 對偶基因者具有較早的初始症狀發病年齡 [26.6 (9.6) 歲]，其次是 HLA-B27⁺ 與 OPG G 對偶基因者 [32.6 (12.2) 歲]、HLA-B27 與 OPG G 對偶基因者 [38.1 (13.6) 歲]、

以及 HLA-B27⁻與 OPG C 對偶基因者 [38.6 (9.8) 歲]。相較於 HLA-B27⁺與 OPG C 對偶基因之病患，在其它組別中的初始症狀發病年齡皆顯著較晚 (P 's < 0.005)。在僵直性脊椎炎男性病患中，HLA-B27⁺與 OPG C 對偶基因是相對於較小的初始症狀發病年齡 [26.2 (9.6) 歲]，其次為 HLA-B27⁺與 OPG G 對偶基因 [31.2 (12.6) 歲]、HLA-B27⁻與 OPG C 對偶基因 [39.9 (11.2) 歲]、以及 HLA-B27⁻與 OPG G 對偶基因 [42.0 (15.8) 歲]，相似的結果也在女性中被觀察到。當多重比較 (Bonferroni-Holm correction) 被考量時，HLA-B27⁺與 OPG C 對偶基因之病患仍然維持顯著較早的初始症狀發病年齡 (P 's < 0.01)。

OPG 基因型在有無周邊關節炎、虹彩炎、以及發炎性腸道疾病之僵直性脊椎炎病患中的分佈，被呈現於表 4-4。在具有 OPG GG、GC、與 CC 基因型之僵直性脊椎炎病患之中，周邊關節炎的比例分別是 41.8%、60.0%、與 12.5%，並且 OPG 基因型盛行率在在有無周邊關節炎之僵直性脊椎炎病患分組之間顯著不同 ($P = 0.001$; Fisher's exact test)。因為較少病患攜帶 OPG CC 基因型，我們在進一步的分析中將 OPG GC 與 CC 基因型合併。在調整年齡、性別、以及初始症狀發病年齡之效應後，我們發現 OPG 同型合子 GG 攜帶者相較於 OPG GC 與 CC 攜帶者具有 1.53 倍的周邊關節炎較高危險 (95% CI 0.92-2.55)；然而，並沒有相關性在 OPG 基因型與僵直性脊椎炎病患其虹彩炎或發炎性腸道疾病的發展之間被觀察到。

討論

本研究發現 OPG G1181C 基因多形性相對於僵直性脊椎炎的發生，並且僵直性脊椎炎病患的初始症狀發病年齡與周邊關節炎之發展在不同的 OPG 基因型之間具有顯著差異。

脊椎骨質流失和骨折是僵直性脊椎炎的可辨別徵狀 [5, 6]。骨質流失是大於成骨作用之骨蝕作用所導致 [7]，由成骨細胞所產生的 OPG 與 RANKL 結合，藉由抑制蝕骨細胞的分化和成熟以及引發其凋零，進而來調控骨吸收作用 [12-14]。Franck 等人 [29] 指出在僵直性脊椎炎病患中相較於在對照中，髖關節和股骨頭的骨質密度顯著較低；並且僵直性脊椎炎病患的骨質流失可能相對於較低的血清 OPG 濃度。OPG 基因的第一個 exon 其 1181 位置的 G 至 C 多形性導致了一個氨基酸 Lys 被置換為 Asn [21]。在華人停經後婦女中，腰脊骨骨質密度在 OPG CC 基因型相較於 GC 和 GG 基因型是顯著較高的，攜帶 OPG GG 基因型者相較於 CC 基因型者具有較高的骨質疏鬆危險 [21]。Langdahl 等人 [22] 發現，骨質疏鬆之患者相較於對照較不具有 CC 基因型，並且 CC 基因型相較於其它基因型在兩組之中均具有較高的骨質密度。然而，在探討 OPG G1181C 基因型與骨質疏鬆之相關的研究中，結果並非都是一致的 [30, 31]。在愛爾蘭停經後婦女之中，攜帶 C 對偶基因者相較於那些攜帶 G 對偶基因者具有顯著較低的腰脊骨與股骨頭骨質密度 [30]；然而，Ueland 等人 [31] 指出 OPG G1181C 基因型以及 OPG 血清濃度是無關於骨質疏鬆症。在種族之中，OPG G1181C 基因型頻率之差異導致如此的差異。在愛爾蘭與澳洲的族群之中，C 對偶基因之頻率分別是 37.3% 與 52.1% [30, 31]。在現今的研究中，對照的 OPG C 對偶基因頻率則是 23.3%，符合哈溫平衡，此頻率也與華人 (26%) 以及日本 (28%) 族群的對照之中 OPG C 對偶基因頻率相似 [21]，如此的結果確認了我們基因型分析的技術。而 OPG 基因和骨質疏鬆之相關性目前尚未被釐清，我們觀察到 OPG GG 基因型者相較於攜帶 GC 和 CC 基因型者具有 1.74 倍的僵直性脊椎炎危險，並且 OPG G1181C 對偶基因也顯示出對偶基因劑量效應的證據。因此，我們的結果建議著 OPG G 對偶基因相較於 OPG C 對偶基因是較無法與 RANKL 結合，可能導致增加的骨蝕作用與僵直性脊椎炎的發生。然而，功能性研究是需要來驗證如此的相關。

除了疾病的發生，僵直性脊椎炎的嚴重程度與初始症狀發病年齡可能也相對於基因因子 [32]。在脊椎關節病變 (spondylarthropathy) 的多發性家庭 (multiplex families) 中，集束分析 (cluster analysis) 顯示初始症狀發病年齡是相對於遺傳，此相關是獨立於疾病病程的效應之外，並且可能是由特定的基因因子所決定 [24]。HLA-B27 基因已知是與僵直性脊椎炎具有高度的相關性 [3]，一項早期的研究已經證實 HLA-B27 基因是相對於較早的僵直性脊椎炎初始症狀發病年齡 [33]；一項漢人的原先研究也發現，HLA-B27⁺的僵直性脊椎炎病患相較於 HLA-B27⁻的病患具有較早的初始症狀發病年齡 [34]。我們的結果是相似的，一個可能的解釋是 HLA-B27 基因的抗原片段結構被免疫系統錯誤辨認，導致 HLA-B27 陽性者進展地更迅速 [34]。我們也發現 OPG G1181C 基因型相對於僵直性脊椎炎病患之初始症狀發病年齡；進一步地，攜帶 OPG C 對偶基因之 HLA-B27⁺病患具有最早的初始症狀發病年齡，僅

是 26.6 歲。在我們的觀察中，OPG C 對偶基因在僵直性脊椎炎的發展中是具保護性的；因此，OPG C 對偶基因病患其僵直性脊椎炎的發展可能主要是由 HLA-B27 狀態所影響。我們攜帶 OPG G 對偶基因之 HLA-B27 陰性僵直性脊椎炎病患則具有較晚的初始症狀發病年齡 (38.1 歲)，然而 OPG G 對偶基因在我們的研究對象中被視為是僵直性脊椎炎發生的危險因子；因此，在具有 OPG G 對偶基因的 HLA-B27 陰性病患其僵直性脊椎炎的發生可能是由 OPG G 對偶基因所引起，而無關於 HLA-B27 的狀態。有趣的是，攜帶 OPG G 對偶基因之 HLA-B27 陽性僵直性脊椎炎病患則具有次早的初始症狀發病年齡 (32.6 歲)；在攜帶 OPG G 對偶基因之 HLA-B27 陽性病患中的僵直性脊椎炎發生可能是由 OPG G 對偶基因與 HLA-B27 兩者分別所引起。在早期未發展出僵直性脊椎炎的 HLA-B27 陽性者，可能藉由 OPG 基因發展出骨質疏鬆，然後於後期發展出僵直性脊椎炎。最後，攜帶 OPG C 對偶基因之 HLA-B27 具有最晚的初始症狀發病年齡。這些病患的發病原因可能既不是由 HLA-B27 也非 OPG G 對偶基因所引起，但是可能由其它危險因子所引起。

在我們的研究中，攜帶不同 OPG 對偶基因與 HLA-B27 的僵直性脊椎炎病患其初始症狀發病年齡也進一步地在不同的性別分組之中被比較。在男性與女性僵直性脊椎炎病患之中，觀察到相似的初始症狀發病年齡之分佈；然而，女性病患的缺乏可能限制了統計檢定力。性賀爾蒙、副甲狀腺賀爾蒙、與維他命 D 可能貢獻至與骨質流失相關的僵直性脊椎炎 [29]，但是我們並未評估這些因子。總體而言，HLA-B27 與 OPG 可能貢獻至僵直性脊椎炎病患的差異；具有 HLA-B27 基因可能貢獻於較早的症狀發生，而 OPG 基因則誘發後期的骨質疏鬆。

僵直性脊椎炎的病患可能不只是呈現出脊椎關節病變，而且也會漸漸地發展出周邊關節病變 [35]。先前研究建議著，在僵直性脊椎炎病患中的骨質流失是相關於由 RANKL/OPG 系統所調控的骨蝕標記濃度 [36, 37]、以及增強的發炎活性 [38]。因為我們大約半數的病患罹患有周邊關節炎，因此它被使用來評估疾病的進展。我們發現周邊關節炎的發生在不同的 OPG G1181C 基因型之中是顯著地不同；攜帶 OPG GG 基因型的僵直性脊椎炎病患相較於那些攜帶 OPG GC 和 CC 基因型者具有較高的周邊關節炎危險，雖然並不顯著。其它的研究已經發現，高度表現的蝕骨細胞可以滲入周邊關節的皮質骨 (periarticular cortical bone)，這是相關於軟骨下硬骨的蝕化 (erosion) [39]。大量的 RANK、RANKL、與 OPG 表現，也已經被發現是部分獨立於發炎反應之外 [40]。我們的結果可能反應著，在攜帶 OPG G 對偶基因之僵直性脊椎炎病患中 OPG 蛋白與 RANKL 較差的結合，導致蝕骨細胞增生以及周邊關節炎的發生。然而，非類固醇抗消炎止痛劑 (non-steroidal anti-inflammatory drugs; NSAIDs) 與免疫調節劑 (disease modifying anti-rheumatic drugs; DMARDs) 的影響並未被評估，建議研究來評估此類藥物是需要的。

在我們的對象中，RANK C575T 與 RANKL C-290T 基因多形性並未被偵測到。Kim 等人 [41] 也在韓國停經後婦女之中並未發現有 RANK C575T 多形性。然而，未來的研究應該評估其它 RANK 以及 RANKL 基因多形性在僵直性脊椎炎發展中的角色。現今的研究具有一些限制。當僵直性脊椎炎病患不論處於急性期或非急性期皆被納入；因此，選樣偏差 (selection bias) 可能會發生。因為我們的對象是成年人，結果並無法推論至幼年型僵直性脊椎炎病患。因為我們的資料是從單一醫學中心所收集，可能會有引介偏差 (referral bias)。雖然回憶偏差 (recall bias) 是可能的，我們同時使用三項評估量表，因此不太可能產生回憶偏差。此外，缺乏病患的骨質狀態資料 (例如脊椎和周邊關節的骨折發生率、骨質密度測量和骨質代謝指標)。

總體而言，OPG G1181C G 對偶基因者相較於 C 對偶基因者具有較高的僵直性脊椎炎之危險；HLA-B27 基因是相關於較早的僵直性脊椎炎症狀發生，而 OPG 基因是相關於較晚的骨質疏鬆之誘發。

參考文獻

- 1 Braun J, Sieper J. Ankylosing spondylitis. *Lancet* 2007;369:1379-90.
- 2 Calin A, Brophy S, Blake D. Impact of sex on inheritance of ankylosing spondylitis: a cohort study. *Lancet* 1999;354:1687-90.
- 3 Brewerton DA, Hart FD, Nicholls A *et al.* Ankylosing spondylitis and HL-A 27. *Lancet* 1973;1:904-7.
- 4 Khan MA, Ball EJ. Genetic aspects of ankylosing spondylitis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2002;16:675-90.

- 5 Ralston SH, Urquhart GD, Brzeski M *et al.* Prevalence of vertebral compression fractures due to osteoporosis in ankylosing spondylitis. *BMJ* 1990;300:563-5.
- 6 Donnelly S, Doyle DV, Denton A *et al.* Bone mineral density and vertebral compression fracture rates in ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 1994;53:117-21.
- 7 Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. *Ann N Y Acad Sci* 2006;1092:385-96.
- 8 Boyce BF, Xing L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther* 2007;9(Suppl 1):S1.
- 9 Yasuda H, Shima N, Nakagawa N *et al.* A novel molecular mechanism modulating osteoclast differentiation and function. *Bone* 1999;25:109-13.
- 10 Hsu H, Lacey DL, Dunstan CR *et al.* Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:3540-5.
- 11 Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR *et al.* Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997;89:309-19.
- 12 Lacey DL, Timms E, Tan HL *et al.* Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998;93:165-76.
- 13 Burgess TL, Qian Y, Kaufman S *et al.* The ligand for osteoprotegerin (OPGL) directly activates mature osteoclasts. *J Cell Biol* 1999;145:527-38.
- 14 Akatsu T, Murakami T, Nishikawa M *et al.* Osteoclastogenesis inhibitory factor suppresses osteoclast survival by interfering in the interaction of stromal cells with osteoclast. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;250:229-34.
- 15 Mizuno A, Amizuka N, Irie K *et al.* Severe osteoporosis in mice lacking osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;247:610-5.
- 16 Wong BR, Rho J, Arron J *et al.* TRANCE is a novel ligand of the tumor necrosis factor receptor family that activates c-Jun N-terminal kinase in T cells. *J Biol Chem* 1997;272:25190-4.
- 17 Mencej S, Prezelj J, Kocijancic A *et al.* Association of TNFSF11 gene promoter polymorphisms with bone mineral density in postmenopausal women. *Maturitas* 2006;55:219-26.
- 18 Hsu YH, Niu T, Terwedow HA *et al.* Variation in genes involved in the RANKL/RANK/OPG bone remodeling pathway are associated with bone mineral density at different skeletal sites in men. *Hum Genet* 2006;118:568-77.
- 19 Wuyts W, Van Wesenbeeck L, Morales-Piga A *et al.* Evaluation of the role of RANK and OPG genes in Paget's disease of bone. *Bone* 2001;28:104-7.
- 20 Morinaga T, Nakagawa N, Yasuda H *et al.* Cloning and characterization of the gene encoding human osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor. *Eur J Biochem* 1998;254:685-91.
- 21 Zhao HY, Liu JM, Ning G *et al.* The influence of Lys3Asn polymorphism in the osteoprotegerin gene on bone mineral density in Chinese postmenopausal women. *Osteoporos Int* 2005;16:1519-24.
- 22 Langdahl BL, Carstens M, Stenkjaer L *et al.* Polymorphisms in the osteoprotegerin gene are associated with osteoporotic fractures. *J Bone Miner Res* 2002;17:1245-55.
- 23 Hamersma J, Cardon LR, Bradbury L *et al.* Is disease severity in ankylosing spondylitis genetically determined?. *Arthritis Rheum* 2001;44:1396-400.
- 24 Porcher R, Said-Nahal R, D'Agostino MA *et al.* Two major spondylarthropathy phenotypes are distinguished by pattern analysis in multiplex families. *Arthritis Rheum* 2005;53:263-71.
- 25 Breban M, Miceli-Richard C, Zinovieva E *et al.* The genetics of spondyloarthropathies. *Joint Bone Spine* 2006;73:355-62.
- 26 Maksymowych WP, Russell AS. Polymorphism in the LMP2 gene influences the relative risk for acute anterior uveitis in unselected patients with ankylosing spondylitis. *Clin Invest Med* 1995;18:42-6.
- 27 van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria. *Arthritis Rheum* 1984;27:361-8.
- 28 Chou CT, Tsai YF, Liu J *et al.* The detection of the HLA-B27 antigen by immunomagnetic separation and enzyme-linked immunosorbent assay-comparison with a flow cytometric procedure. *J Immunol Methods* 2001;255:15-22.

- 29 Franck H, Meurer T, Hofbauer LC. Evaluation of bone mineral density, hormones, biochemical markers of bone metabolism, and osteoprotegerin serum levels in patients with ankylosing spondylitis. *J Rheumatol* 2004;31:2236-41.
- 30 Chou CT, Tsai YF, Liu J *et al.* Investigation of the genetic influence of the OPG, VDR (Fok1), and COLIA1 Sp1 polymorphisms on BMD in the Irish population. *Calcif Tissue Int* 2002;71:26-35.
- 31 Ueland T, Bollerslev J, Wilson SG *et al.* No associations between OPG gene polymorphisms or serum levels and measures of osteoporosis in elderly Australian women. *Bone* 2007;40:175-81.
- 32 Brophy S, Calin A. Ankylosing spondylitis: interaction between genes, joints, age at onset, and disease expression. *J Rheumatol* 2001;28:2283-8.
- 33 Khan MA, Kushner I, Braun WE. Comparison of clinical features in HLA-B27 positive and negative patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 1977;20:909-12.
- 34 Wu Z, Lin Z, Wei Q *et al.* Clinical features of ankylosing spondylitis may correlate with HLA-B27 polymorphism. *Rheumatol Int* 2009;29:389-92.
- 35 Ozgocmen S, Godekmerdan A, Ozkurt-Zengin F. Acute-phase response, clinical measures and disease activity in ankylosing spondylitis. *Joint Bone Spine* 2007;74:249-53.
- 36 MacDonald AG, Birkinshaw G, Durham B *et al.* Biochemical markers of bone turnover in seronegative spondylarthropathy: relationship to disease activity. *Br J Rheumatol* 1997;36:50-3.
- 37 Hofbauer LC, Heufelder AE. The role of osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor kappaB ligand in the pathogenesis and treatment of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2001;44:253-9.
- 38 Broman P, Bodur H, Bingöl N *et al.* Bone mineral density and bone turnover markers in a group of male ankylosing spondylitis patients: relationship to disease activity. *J Clin Rheumatol* 2001;7:315-21.
- 39 Bromley M, Woolley DE. Chondroclasts and osteoclasts at subchondral sites of erosion in the rheumatoid joint. *Arthritis Rheum* 1984;27:968-75.
- 40 Vandooren B, Cantaert T, Noordenbos T *et al.* The abundant synovial expression of the RANK/RANKL/Osteoprotegerin system in peripheral spondylarthritis is partially disconnected from inflammation. *Arthritis Rheum* 2008;58:718-29.
- 41 Kim JG, Kim JH, Kim JY *et al.* Association between osteoprotegerin (OPG), receptor activator of nuclear factor-kappaB (RANK), and RANK ligand (RANKL) gene polymorphisms and circulating OPG, soluble RANKL levels, and bone mineral density in Korean postmenopausal women. *Menopause* 2007;14:913-8.

表 4-1：僵直性脊椎炎病患與對照之基本與臨床特徵

特徵	僵直性脊椎炎病例	對照
研究對象個數	330	330
年齡 (歲)	43.7 (10.2)	44.5 (10.6)
性別：男性，個數 (%)	230 (69.7)	230 (69.7)
疾病家族史，個數 (%)	150 (45.5)	
臨床表徵		
初始症狀發病年齡，歲	32.2 (12.3)	
疾病病程，年	11.5 (10.4)	
延誤診斷疾病期間，年	5.5 (7.6)	
周邊關節炎，個數 (%)	152 (46.1)	
虹彩炎，個數 (%)	93 (28.2)	
發炎性腸道疾病，個數 (%)	15 (4.5)	

數據是以平均值 (標準差) 來呈現，除非其它變項有特定指出。

表 4-2：RANK、RANKL、與 OPG 基因型以及對偶基因頻率分佈與僵直性脊椎炎發生之相關性

基因	僵直性脊椎炎病例 (%)	健康對照 (%)	相對危險性 (95%信賴區間)	P 值
RANK C575T 基因型				
CC	330 (100.0)	330 (100.0)	-	
RANKL C-290T 基因型				
CC	330 (100.0)	330 (100.0)	-	
OPG G1181C 基因型				
GG	232 (70.3)	190 (57.6)*	2.14 (0.88-5.19)	< 0.095
GC	90 (27.3)	126 (38.2)	1.25 (0.50-3.10)	< 0.630
CC	8 (2.4)	14 (4.2)	1.00 (reference)	
GG	232 (70.3)	190 (57.6)**	1.74 (1.26-2.40)	< 0.001
GC/CC	98 (29.7)	140 (42.4)	1.00 (reference)	
對偶基因				
G	554 (83.9)	506 (76.7)***	1.59 (1.21-2.09)	< 0.001
C	106 (16.1)	154 (23.3)	1.00 (reference)	

* $P = 0.003$ ； χ^2 -test 被使用來檢驗在僵直性脊椎炎病患與對照之中的 OPG 基因型盛行率。
 ** $P < 0.001$ ； χ^2 -test 被使用來檢驗在僵直性脊椎炎病患與對照之中的 OPG 基因型盛行率。
 *** $P < 0.001$ ； χ^2 -test 被使用來檢驗在僵直性脊椎炎病患與對照之中的 OPG 對偶基因盛行率。

表 4-3：在不同 OPG 基因型分組之中，僵直性脊椎炎病患的臨床表徵

變項	基因型			對偶基因	
	GG	GC	CC	G	C
研究對象個數	232	90	8	554	106
初始症狀發病年齡，歲	34.0 (12.6)	28.4 (10.6)	23.8 (7.4) [*]	33.1 (12.4)	27.7 (10.2) ^{**}
疾病病程，年	11.4 (10.6)	12.0 (9.9)	9.6 (8.0) ^{***}	11.5 (10.5)	11.7 (9.6) ^{****}
延誤診斷疾病時間，年	5.5 (7.7)	5.5 (7.5)	4.9 (8.0) ^{*****}	5.5 (7.7)	5.4 (7.5) ^{*****}

數據是以平均值 (標準差) 呈現，除非其它變項有特定指出。

^{*} $P = 0.011$; ANOVA (調整後之 $P = 0.033$, Bonferroni-Holm test) 。 ^{**} $P < 0.001$; t -test (調整後之 $P = 0.003$, Bonferroni-Holm test) 。 ^{***} $P = 0.767$; ANOVA 。 ^{****} $P = 0.560$; t -test 。 ^{*****} $P = 0.972$; ANOVA 。 ^{*****} $P = 0.955$; t -test 。

表 4-4：在有無周邊關節炎、虹彩炎、以及發炎性腸道疾病的僵直性脊椎炎病患中，OPG 基因型之分佈

	GG	G	CC	GG 勝算比 (95% CI) ^a	GC 與 CC reference
OPG 基因型	個數 (%)	個數 (%)	個數 (%)		
周邊關節炎					
有	97 (41.8)	54 (60.0)	1 (12.5) ^{b,*}	1.53 (0.92-2.55)	1.00
無	135 (58.2)	36 (40.0)	7 (87.5)		
眼睛虹彩炎					
有	61 (26.3)	31 (34.4)	1 (12.5) ^{b,**}	1.35 (0.78-2.32)	1.00
無	171 (73.7)	59 (65.6)	7 (87.5)		
發炎性腸道疾病					
有	9 (3.9)	6 (6.7)	0 (0.0) ^{b,***}	1.73 (0.57-5.26)	1.00
無	223 (96.1)	84 (93.3)	8 (100.0)		

^a 多變項非條件式邏輯斯迴歸模式被建構來獲取在調整年齡、性別、以及初始症狀發病年齡之效應後，OPG 基因型對於臨床徵狀的調整後勝算比與相對應的 95% 信賴區間。^b OPG 基因型在有無周邊關節炎、虹彩炎、以及發炎性腸道疾病之僵直性脊椎炎病患中的分佈是以 Fisher's exact test 來檢定。^{*} $P = 0.001$ ；Fisher's exact test (調整後之 $P = 0.006$ ，Bonferroni-Holm test)。^{**} $P = 0.249$ ；Fisher's exact test。^{***} $P = 0.571$ ；Fisher's exact test。

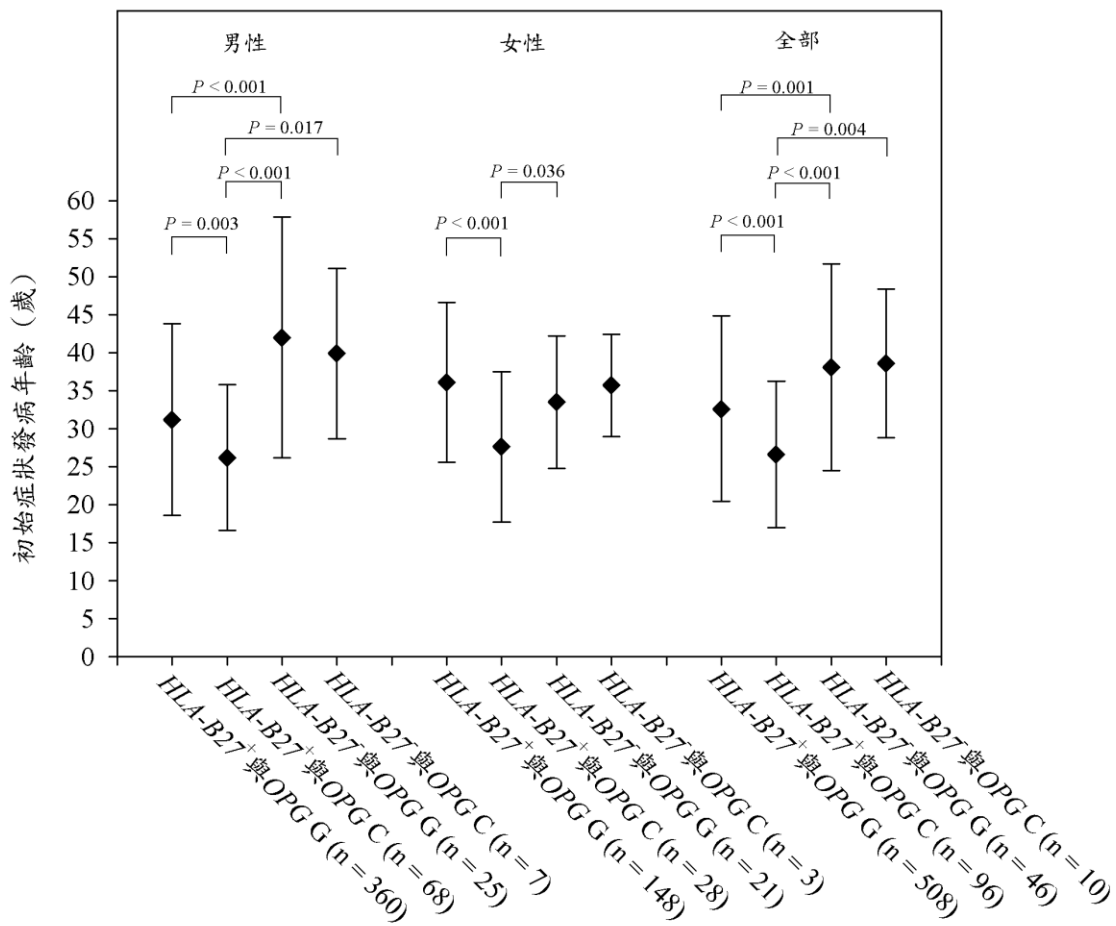


圖 4-1：僵直性脊椎炎病患的初始症狀發病年齡在不同 OPG 對偶基因、HLA-B27、與性別分組之間的差異。數據是以平均值 (標準差) 來呈現。

第五章 計畫性細胞死亡-1 與其配位基基因多形性在僵直性脊椎炎發展上的效應

摘要

已知在失衡的周邊耐受性與自體免疫疾病之間具有相關性，計畫性細胞死亡-1 (programmed cell death 1; PD-1) 與其配位基-1 (PD-L1) 以及配位基-2 (PD-L2) 鍵結透過由蛋白酪氨酸磷酸酶 2 (src homology 2-domain-containing tyrosine phosphatase 2) 聚集的負向訊息來抑制 T 細胞的增生。因此，我們評估 PD-1、PD-L1、以及 PD-L2 基因型在台灣人病患族群中僵直性脊椎炎發生的效應。以聚合酶鏈鎖反應-限制片段長度多形性 (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism) 來執行 330 名僵直性脊椎炎病患與 330 名經由年齡與性別配對之健康對照的 PD-1 G-536A、PD-L1 A8923C、以及 PD-L2 C47103T 基因多形性之判定。攜帶 PD-1 GG (配對相對危險性 [RR_m] 1.78; 95% CI 1.13-2.81) 與 GA (RR_m 1.59; 95% CI 1.09-2.31) 基因型者相較於 AA 基因型者，具有顯著較高的僵直性脊椎炎發生危險；而攜帶 PD-L2 CT 基因型者相較於 CC 基因型者，則具有較低的僵直性脊椎炎危險 (RR_m 0.01; 95% CI 0.001-0.06)。有趣的是，PD-1 G-536A、PD-L1 A8923C、以及 PD-L2 C47103T 的合併基因型也明顯地是相關於僵直性脊椎炎之發生。我們的結果建議著，PD-1 G-536A、PD-L1 A8923C、以及 PD-L2 C47103T 基因多形性是相關於僵直性脊椎炎的發生。

關鍵詞：僵直性脊椎炎、計畫性細胞死亡-1、計畫性細胞死亡-1 配位基、基因多形性

前言

僵直性脊椎炎 (ankylosing spondylitis; AS) 是一種與基因具有顯著相關的自體免疫疾病 [1]，研究已經建立了人類白血球抗原 (human leukocyte antigen; HLA)-B27 基因與僵直性脊椎炎之相關性 [2]，但是 HLA-B27 可能僅貢獻於與僵直性脊椎炎基因變異的 16% [3]。周邊耐受性之失衡是相關於多種自體免疫疾病 [4]，循環的 CD4⁺ T 細胞以及 CD8⁺ T 細胞在僵直性脊椎炎患者中相較於在健康者中具有較高的表現 [5, 6]；所以，周邊耐受性的失衡也可能相關於僵直性脊椎炎。

重要的是，活化 T 細胞的負向訊息在周邊耐受性的平衡上具有關鍵的角色 [4]。T 細胞接受器 (T cell receptor) 與抗原呈現細胞 (antigen presenting cell; APC) 表面的組織相容性抗原 (major histocompatibility complex; MHC) 的結合調控著 T 細胞的活化 [7]，T 細胞的活化還需要 CD28 以及 CD40 與在 APC 上的 B7-1 (CD80) 與 B7-2 (CD86) 所參與的共刺激 (co-stimulatory) 訊號 [8]。計畫性細胞死亡-1 (programmed cell death 1; PD-1) 是具有免疫接受器酪氨酸活化基序 (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif) 的膜蛋白，並且表現在活化的淋巴球細胞與單核球細胞 [7]；PD-1 與其配位基 1 與 2 (PD-L1 和 PD-L2) 的鍵結透過由蛋白酪氨酸磷酸酶 2 (src homology 2-domain-containing tyrosine phosphatase 2; SHP-2) 聚集的負向訊息來抑制 T 細胞的增生和 CD28 調控的共刺激 [9-11]。一項先前研究指出，C57BL/6-PD-1 (-/-) 小鼠自發性地表現出類似紅斑性狼瘡的增生性關節炎 (lupus-like proliferative arthritis) 與腎絲球腎炎 (glomerulonephritis; GN)，建議著 PD-1 是參與在周邊耐受性的維持上 [12]；其它的活體 (in vivo) 研究指出在 PD-L1 與 PD-L2 的阻斷，可導致糖尿病 [13] 與實驗性自體免疫腦脊髓炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis) [14]。因此，PD-1 與其配位基的交互作用之阻斷可能是相關於僵直性脊椎炎。

人類 PD-1 基因是位於染色體 2q37 [15]，在啟動子 (-536) 的單一核苷酸多形性 (single nucleotide polymorphism; SNP) 被辨識到為 G 至 A 的置換 (rs36084323) [16]，並且位在轉譯起始位置的此一核苷酸多形性是相關於 PD-1 的功能；PD-1 G-536A 基因多形性也是相關於類風溼性關節炎 (rheumatoid arthritis; RA) [17] 和第一型糖尿病 (type 1 diabetes mellitus) [18] 的發生。PD-L1 與 PD-L2 基因兩者是位於染色體 9p24 [18]，PD-L1 A8923C (rs1970000) 基因多形性是接近或位於轉錄因子結合位置 (transcriptional factor binding sites) 之內 [19]，並且可能影響到轉錄因子的結合。此外，PD-L2 基因在 exon 5 上的 C47103T (rs7854303) 基因型改變了在穿膜區域 (transmembrane domain) 的氨基酸由絲氨酸 (serine) 變成苯丙氨酸 (phenylalanine) [20]。然而，PD-1、PD-L1、與 PD-L2 基因與僵直性脊椎炎發生之相關是不清楚的；在此病例對照研究中，我們評估 PD-1、PD-L1、以及 PD-L2 基因型與僵直性

脊椎炎發生的相關。

材料與方法

病患和對照

總計有 330 名從中山醫學大學附設醫院 (台灣, 台中) 關節炎門診被納入的僵直性脊椎炎病患, 合格的免疫風濕科醫師依據修飾後的 New York 準則來確診僵直性脊椎炎 [21]。所有病患是至少 18 歲並且提供知情同意書, 醫師記錄其臨床史, 包括初始症狀發病年齡、僵直性脊椎炎家族史、和脊椎關節外的併發症。初始症狀發病年齡被定義為首次症狀發病時間, 無論是脊椎症狀 (axial symptom)、周邊關節炎、虹彩炎 (uveitis) 或接骨點發炎 (enthesitis) 被診斷出; 延誤診斷疾病時間, 被定義為初始症狀發病時間至僵直性脊椎炎確診時間的間隔。一項 1:1 的病例與對照之配對比例被使用, 對照是以僵直性脊椎炎病患之年齡 (± 5 歲) 與性別所配對, 是隨機選取於就醫的病患並且無風濕或自體免疫症狀。研究的過程符合赫爾辛基宣言, 並且經過中山醫學大學附設醫院人體試驗委員會的批准。

基因多形性判定

所有對象的 PD-1 G-536A [16]、PD-L1 A8923C [19]、和 PD-L2 C47103T [20] 基因型是根據聚合酶鏈鎖反應-限制片段長度多形性 (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism; PCR-RFLP) 來辨識。用以增幅 PD-1 G-536A 基因型的引發子 (primers) 為 5'-GAT CTG GAA CTG TGG CCA TG-3' 和 5'-GGC TGC CCA CAG CCT CT-3'; 用以增幅 PD-L1 A8923C 基因型的引發子為 5'-AAT GGC TTG TTG TCC AGA GAT G-3' 以及 5'-GTA CCA CAT GGA GTG GCT GC-3'; 用以增幅 PD-L2 C47103T 基因型的引發子為 5'-GCT TCA CAT TTT CAT CCC AT-3' 以及 5'-AGT GGC TCA TGC TGC AGA C-3'。所有對象的 10% 之 DNA 定序, 被使用來確認 PCR-RFLP 的結果。

統計分析

適合度檢定 (goodness-of-fit) 被執行來驗證 PD-1 G-536A、PD-L1 A8923C、和 PD-L2 C47103T 基因型是否符合哈溫平衡 (Hardy-Weinberg equilibrium), χ^2 -test 也被使用來比較病例與對照組之中 PD-1、PD-L1、和 PD-L2 基因型與對偶基因頻率的盛行率。條件式邏輯斯迴歸模式 (conditional logistic regression model) 被使用來對於 PD-1、PD-L1、和 PD-L2 基因型以及這些基因型的合併效應計算在僵直性脊椎炎發生上的配對相對危險性 (matched relative risk; RR_m) 與 95% 信賴區間 (95% confidence interval; CI)。所有的 P 值以雙尾檢定來計算, 並且全部統計分析以 SAS 9.1 視窗版 (SAS Institute, Cary, NC, USA) 來執行。

結果

總計有 330 名僵直性脊椎炎病患和 330 名配對的對照被納入, 病患與對照的平均年齡分別是 43.8 (0.6, 標準誤) 與 44.5 (0.6) 歲, 並且在兩組中 69.4% 的對象是男性。在僵直性脊椎炎病患中, 初始症狀發病年齡為 31.8 (0.7) 歲, 疾病持續時間為 12.0 (0.6) 年, 延遲診斷時間為 64.7 (5.1) 個月。

在我們的對照中, PD-1 G-536A ($P = 0.06$) 以及 PD-L1 A8923C ($P = 0.81$) 基因多形性是符合哈溫平衡, 而 PD-L2 C47103T 基因型在我們的僵直性脊椎炎病患中則並未被辨識到。相較於 PD-1 AA 基因型者, PD-1 GG 與 GA 基因型者分別有 1.78 倍 (95% CI 1.13-2.81) 與 1.59 倍 (95% CI 1.09-2.31) 的僵直性脊椎炎增加危險 (表 1)。相似地, 攜帶 PD-1 G-536A 基因型之 G 對偶基因者相較於 A 對偶基因者具有顯著較高的僵直性脊椎炎危險 (RR_m 1.37; 95% CI 1.09-1.73)。PD-L1 CC 基因型者相較於 AA 基因型者也有較高的僵直性脊椎炎危險 (RR_m 3.00; 95% CI 0.77-11.74); 此外, 所有的僵直性脊椎炎病患具有 PD-L2 C47103T C 對偶基因, 在對照中並未具有 PD-L2 C47103T TT 基因型的存在, 有趣的是, 相較於 PD-L2 CC 基因型者, PD-L2 CT 攜帶者具有顯著減少的僵直性脊椎炎危險 (RR_m 0.01; 95% CI 0.001-0.06)。

隨後, 我們評估 PD-1、PD-L1、以及 PD-L2 基因型對於僵直性脊椎炎的合併效應。我們的結果指出攜帶 PD-1 GG 和 GA 基因型者具有增加的僵直性脊椎炎危險; 進一步地, 我們合併攜帶 PD-1 GG 和

GA 基因型者，並且與攜帶 PD-1 AA 基因型者進行比較。此外，攜帶 PD-L1 A8923C C 對偶基因者相較攜帶 PD-L1 A 對偶基因型者具有較差的轉錄活性 [19]；因而我們合併攜帶 PD-L1 AC 和 AA 基因型者，並且與 PD-L1 CC 基因型者進行比較。然而，沒有具有 PD-L2 CT 基因型者的僵直性脊椎炎病患；所以，我們將同時攜帶 PD-1 AA、PD-L1 AC 和 AA 基因型、以及 PD-L2 CC 基因型者，與攜帶 PD-L2 CT 基因型者合併為參考組。相較於參考組，攜帶 PD-1 GG 和 GA 與 PD-L1 CC 基因型的 PD-L2 CC 攜帶者、PD-1 AA 與 PD-L1 CC 基因型的 PD-L2 CC 基因型攜帶者、與 PD-1 GG 和 GA 與 PD-L1 AC 和 AA 基因型的 PD-L2 CC 攜帶者分別具有 6.63 倍 (95% CI 1.28-34.46)、4.33 倍 (95% CI 0.36-52.64)、和 3.05 倍 (95% CI 2.16-4.32) 的僵直性脊椎炎增加危險 (表 5-1)。

討論

研究已經提議 PD-1 與其配位基的交互作用以及 CD28 調控的共刺激訊息在周邊耐受性中扮演著關鍵的角色 [9-11]，一些 PD-1 基因多形性與僵直性脊椎炎發生的可能相關性也已經被探討 [22, 23]。在 PD-1 基因轉錄起始位置的-536 位置有一個 G 至 A 的多形性 [16]，Kong 等人 [17] 報告攜帶 PD-1 -536AA 基因型的香港華人相較於 PD-1 GG 基因型者是較不易具有類風濕性關節炎；Wang 等人 [16] 則報告在台灣人中 PD-1 G-536A 多形性並未相關於全身性紅斑性狼瘡，但是他們的結果可能是受限於較小的樣本數目。在現今的研究中，我們觀察到攜帶 PD-1 -536 GG 與 GA 基因型者相較於攜帶 AA 基因型者具有顯著提升的僵直性脊椎炎危險。PD-L1 A8923C 多形性是接近或位於轉錄因子結合位置之內，並且可能影響轉錄因子的鍵結 [19]。Hayashi 等人 [19] 觀察到攜帶 PD-L1 A8923C C 對偶基因的日本人相較於攜帶 A 對偶基因者具有葛瑞夫茲氏病 (Graves' disease) 的增加危險，我們的結果也指出 PD-L1 C 對偶基因者相較於 A 對偶基因者具有僵直性脊椎炎的較高危險，雖然此效應並未達到統計顯著性。PD-L2 基因在 exon 5 上的 C47103T 基因型在穿膜區域具有改變的氨基酸 (絲氨酸置換成苯丙氨酸) [20]；然而，PD-L2 C47103T 基因型與自體免疫疾病之相關性似乎是分歧的。Wang 等人 [20] 報告攜帶 PD-L2 C47103T T 對偶基因者，相較於攜帶 C 對偶基因者具有紅斑性狼瘡的增加危險；但是，攜帶 PD-L2 C 對偶基因者相較於攜帶 T 對偶基因者則是較可能具有類風濕關節炎 [24]。這些不一致結果的原因可能是因為健康對照之 PD-L2 C47103T 基因型頻率之差異、致病機轉之不同、以及/或是小樣本數目的使用。在現今的研究中，我們所有的僵直性脊椎炎病患經過基因定序確認均是具有 PD-L2 C47103T C 對偶基因。進一步地，我們觀察到攜帶 PD-L2 CT 基因型者相較於攜帶 CC 基因型者對於僵直性脊椎炎是的發生具保護性的，PD-L2 T 對偶基因攜帶者明顯地是較不易發展出僵直性脊椎炎。

我們評估 PD-1、PD-L1、以及 PD-L2 多形性對於僵直性脊椎炎的合併效應。在我們的對照中，並無具有 PD-L2 T 對偶基因者。我們合併攜帶 PD-1 AA、PD-L1 AC 和 AA、與 PD-L2 CC 基因型，以及具有 PD-L2 CT 基因型者為參考組，同時攜帶 PD-1 GG 和 GA、PD-L1 CC、與 PD-L2 CC 基因型者具有僵直性脊椎炎的最高危險。同時攜帶 PD-1 AA、PD-L1 CC、與 PD-L2 CC 基因型者也具有較高的僵直性脊椎炎危險；但是在我們的研究族群中，僅有三名如此的對象。此外，同時攜帶 PD-1 GG 和 GA、PD-L1 AC 和 AA 基因型、與 PD-L2 CC 基因型者也具有顯著增加的僵直性脊椎炎危險。我們的結果建議著攜帶 PD-L2 C47103T CT 基因型者對於僵直性脊椎炎可能是具有顯著保護作用的，並且這些同時攜帶易感受性基因型 (PD-1 G-536A、PD-L1 A8923C、和 PD-L2 C47103T CC) 者具有僵直性脊椎炎的增加危險。

在我們的對照中，PD-1 A 對偶基因的頻率為 58.9%；與先前在華人以及日本族群中所報告的頻率是具可比性的 (49-55%) [16, 17, 25]。在我們的對照中，PD-1 G-536A 以及 PD-L1 A8923C 基因型的頻率也是符合哈溫平衡；在基因定序後，我們的 PD-L2 C47103T 基因型之 PCR-RFLP 結果也被確認，都更加以確認我們基因型的技術。

在我們的研究中，病患與對照是以性別和年齡進行配對，以降低可能的選擇偏差 (selection bias)；我們也試著藉由選擇與我們的僵直性脊椎炎病患來自相同族群的對照對象，來使可能的偏差降至最小。PD-1 和其配位基之基因多形性也可能僅是一些族群的僵直性脊椎炎之易感受性因子，從不同族群納入更多對象的額外研究可能可以來解決此問題。進一步地，在活體 (in vivo) 中 PD-1 與其配位基表現的調控是複雜的，並且受到其它轉錄因子或後轉錄因子 (post-transcription) 所影響，例如細胞激素。

總結來說，我們的結果指出 PD-1 G-536A GG 和 GA 基因型是相關於僵直性脊椎炎的增加危險，PD-L2 C47103T CT 基因型對於僵直性脊椎炎具有保護的效應；而 PD-1 G-536A、PD-L1 A8923C、以及 PD-L2 C47103T 的合併基因型也明顯地相關於僵直性脊椎炎。

參考文獻

1. Sieper J, Braun J, Rudwaleit M *et al.* Ankylosing spondylitis: an overview. *Ann Rheum Dis* 2002;61:iii8-18.
2. Brewerton DA, Hart FD, Nicholls A *et al.* Ankylosing spondylitis and HL-A 27. *Lancet* 1973;1:904-7.
3. Khan MA, Ball EJ. Genetic aspects of ankylosing spondylitis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2002;16:675-90.
4. Tarner IH, Fathman CG. Does our current understanding of the molecular basis of immune tolerance predict new therapies for autoimmune disease? *Nat Clin Pract Rheumatol* 2006;2:491-9.
5. Duftner C, Goldberger C, Falkenbach A *et al.* Prevalence, clinical relevance and characterization of circulating cytotoxic CD4+CD28- T cells in ankylosing spondylitis. *Arthritis Res Ther* 2003;5:R292-300.
6. Schirmer M, Goldberger C, Wurzner R *et al.* Circulating cytotoxic CD8(+) CD28(-) T cells in ankylosing spondylitis. *Arthritis Res* 2002;4:71-6.
7. Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ *et al.* PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol* 2008;26:677-704.
8. Sharpe AH, Freeman GJ. The B7-CD28 superfamily. *Nat Rev Immunol* 2002;2:116-26.
9. Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y *et al.* Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J Exp Med* 2000;192:1027-34.
10. Latchman Y, Wood CR, Chernova T *et al.* PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nat Immunol* 2001;2:261-8.
11. Okazaki T, Maeda A, Nishimura H *et al.* PD-1 immunoreceptor inhibits B cell receptor-mediated signaling by recruiting src homology 2-domain-containing tyrosine phosphatase 2 to phosphotyrosine. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:13866-71.
12. Nishimura H, Nose M, Hiai H *et al.* Development of lupus-like autoimmune diseases by disruption of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor. *Immunity* 1999;11:141-51.
13. Ansari MJ, Salama AD, Chitnis T *et al.* The programmed death-1 (PD-1) pathway regulates autoimmune diabetes in nonobese diabetic (NOD) mice. *J Exp Med* 2003;198:63-9.
14. Salama AD, Chitnis T, Imitola J *et al.* Critical role of the programmed death-1 (PD-1) pathway in regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Exp Med* 2003;198:71-8.
15. Prokunina L, Castillejo-Lopez C, Oberg F *et al.* A regulatory polymorphism in PDCD1 is associated with susceptibility to systemic lupus erythematosus in humans. *Nat Genet* 2002;32:666-9.
16. Wang SC, Chen YJ, Ou TT *et al.* Programmed death-1 gene polymorphisms in patients with systemic lupus erythematosus in Taiwan. *J Clin Immunol* 2006;26:506-11.
17. Kong EK, Prokunina-Olsson L, Wong WH *et al.* A new haplotype of PDCD1 is associated with rheumatoid arthritis in Hong Kong Chinese. *Arthritis Rheum* 2005;52:1058-62.
18. Ni R, Ihara K, Miyako K *et al.* PD-1 gene haplotype is associated with the development of type 1 diabetes mellitus in Japanese children. *Hum Genet* 2007;121:223-32.
19. Hayashi M, Kouki T, Takasu N *et al.* Association of an A/C single nucleotide polymorphism in programmed cell death-ligand 1 gene with Graves' disease in Japanese patients. *Eur J Endocrinol* 2008;158:817-22.
20. Wang SC, Lin CH, Ou TT *et al.* Ligands for programmed cell death 1 gene in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2007;34:721-5.
21. van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria. *Arthritis Rheum* 1984;27:361-8.
22. Lee SH, Lee YA, Woo DH *et al.* Association of the programmed cell death 1 (PDCD1) gene polymorphism with ankylosing spondylitis in the Korean population. *Arthritis Res Ther* 2006;8:R163.
23. Soleimanifar N, Amirzargar AA, Mahmoudi M *et al.* Study of programmed cell death 1 (PDCD1) gene polymorphisms in Iranian patients with ankylosing spondylitis. *Inflammation* 2011; 34:707-12.
24. Wang SC, Lin CH, Li RN *et al.* Polymorphisms of genes for programmed cell death 1 ligands in patients

- with rheumatoid arthritis. *J Clin Immunol* 2007;27:563-7.
25. Iwamoto T, Ikari K, Inoue E *et al.* Failure to confirm association between PDCD1 polymorphisms and rheumatoid arthritis in a Japanese population. *J Hum Genet* 2007;52:557-60.

表 5-1：PD-1、PD-L1、以及 PD-L2 多形性在僵直性脊椎炎病患與正常對照中的頻率

特徵	僵直性脊椎炎病患	正常對照	配對相對危險性 <i>P</i> -value	
	個數 (%)	個數 (%)	(95% CI)	
個數	330	330		
PD-1 G-536A 基因型				
GG	81 (24.5)	64 (19.4)	1.78 (1.13, 2.81)	0.013
GA	163 (49.4)	143 (43.3)	1.59 (1.09, 2.31)	0.016
AA	86 (26.1)	123 (37.3)	1.00 (reference)	
G	325 (49.2)	271 (41.1)	1.37 (1.09, 1.73)	0.007
A	335 (50.8)	389 (58.9)	1.00 (reference)	
PD-L1 A8923C 基因型				
CC	8 (2.4)	3 (0.9)	3.00 (0.77, 11.74)	0.113
AC	58 (17.6)	61 (18.5)	0.95 (0.62, 1.46)	0.828
AA	264 (80.0)	266 (80.6)	1.00 (reference)	
C	74 (11.2)	67 (10.2)	1.15 (0.80, 1.67)	0.455
A	586 (88.8)	593 (89.8)	1.00 (reference)	
PD-L2 C47103T 基因型				
TT	0 (0.0)	0 (0.0)	-	-
CT	0 (0.0)	86 (26.1)	0.01 (0.001, 0.06)	<0.001
CC	330 (100)	244 (73.9)	1.00 (reference)	
T	0 (0.0)	86 (13.0)	0.01 (0.001, 0.07)	<0.001
C	660 (100)	574 (87.0)	1.00 (reference)	
PD-1/PD-L1/PD-L2 基因型				
GG + GA/CC/CC	6 (1.8)	2 (0.6)	6.63 (1.28, 34.46)	0.025
AA/CC/CC	2 (0.6)	1 (0.3)	4.33 (0.36, 52.64)	0.250
GG + GA/AC + AA/CC	238 (72.1)	149 (45.1)	3.05 (2.16, 4.32)	<0.001
AA/AC + AA/CC	84 (25.5)	92 (27.9)	1.00 (reference) ^a	
GG + GA/CC/CT	0 (0)	0 (0)		
GG + GA/AC + AA/CT	0 (0)	56 (17.0)		
AA/CC/CT	0 (0)	0 (0)		
AA/AC + AA/CT	0 (0)	30 (9.1)		

^a 合併 PD-1 AA/PD-L1 AC + AA/PD-L2 CC，以及全部的 PD-L2 CT 為參考組。

第六章 蛋白酪氨酸磷酸酶 (PTPN22) 和第四類細胞毒殺性 T 淋巴抗原 (CTLA-4) 基因多形性與台灣僵直性脊椎炎之相關

摘要

僵直性脊椎炎 (ankylosing spondylitis ; AS) 是一種自體免疫疾病，並且周邊耐受性之失衡是參與在其致病機轉中。重要的是，活化 T 細胞的負向訊息在周邊耐受性的平衡扮演一個關鍵的角色。蛋白酪氨酸磷酸酶 N22 (protein tyrosine phosphatase nonreceptor 22 ; PTPN22) 和第四類細胞毒殺性 T 淋巴抗原 (cytotoxic T lymphocyte antigen-4 ; CTLA-4) 基因所轉譯的蛋白作用在調節 T 細胞的活性。因此，我們評估 PTPN22 與 CTLA-4 基因型在僵直性脊椎炎發生之效應。以聚合酶鏈鎖反應 (polymerase chain reaction) 來執行 391 名僵直性脊椎炎病患與 391 名健康對照之 PTPN22 -1123 G/C 與 CTLA-4 +49 A/G 基因多形性的判定。PTPN22 CC 和 GC 基因型者相較於 GG 基因型者，具有一個較高的僵直性脊椎炎發生危險 (相對危險性 [relative risk ; RR] 1.39, 95% 信賴區間 [confidence interval ; CI] 1.03-1.88)。進一步地，同時攜帶 PTPN22 CC/CTLA-4 AA 或是 PTPN22 GC/CTLA-4 AA 基因型者相較於其他 PTPN22 與 CTLA-4 基因型合併組合者具有 1.90 倍 (95% CI 1.02-3.49) 的僵直性脊椎炎增加危險。我們的結果指出 PTPN22 -1123 G/C 與 CTLA-4 +49 A/G 基因多形性在僵直性脊椎炎的發展上具有合併效應。

關鍵詞：僵直性脊椎炎、第四類細胞毒殺性 T 淋巴抗原、蛋白質酪氨酸磷酸酶 N22

前言

僵直性脊椎炎 (ankylosing spondylitis ; AS) 是一種自體免疫疾病，並且周邊耐受性之失衡是參與在其致病機轉中 [1]。僵直性脊椎炎患者相較於健康者可能表現出較高的周邊循環 CD4⁺ T 細胞以及 CD8⁺ T 細胞數目 [2, 3]；重要的是，活化 T 細胞的負向訊息在周邊耐受性的平衡中扮演著一項關鍵的角色 [1]。淋巴酪氨酸磷酸酶 (lymphoid tyrosine phosphatase ; LYP) 是蛋白酪氨酸磷酸酶家族 (protein tyrosine kinases ; PTKs) 的一個成員，並且表現於 T 細胞上 [4]；LYP 會去磷酸化 Src 激酶和 ZAP-70，並且進而抑制 T 細胞接收器 (T cell receptor ; TCR) 訊息 [5, 6]。T 細胞活化也需要 CD28 以及 CD40 與抗原呈現細胞 (antigen presenting cell ; APC) 上的 B7-1 (CD80) 以及 B7-2 (CD86) 作用所產生的共刺激訊號 (co-stimulatory signals) [7]。第四類細胞毒殺性 T 淋巴抗原 (cytotoxic T lymphocyte antigen-4 ; CTLA-4) 是 CD28 的同源物 (homologue)，與 CD80 以及 CD86 的鍵結來負向調節 T 細胞活化 [8]。CTLA-4 基因剔除小鼠具有失控的 T 細胞增生，並且它們的 TCR 特定激酶 Fyn、Lck 與 ZAP-70、以及 RAS 路徑被活化 [9]。特別的是，已經假設 CTLA-4 可藉由與參與在 CD28 訊息路徑中的生長因子接受器結合蛋白 2 (growth factor receptor-bound protein 2 ; Grb2) 產生複合物，進而抑制 T 細胞活化 [10]。

LYP 蛋白是由位於染色體 1p13 的蛋白酪氨酸磷酸酶 N22 (protein tyrosine phosphatase, nonreceptor 22 ; PTPN22) 基因所轉譯 [11]。在 PTPN22 啟動子區域-1123 位置 (rs2488457) 一個 G 至 C 的單一核苷酸多形性 (single nucleotide polymorphism ; SNP) 與 PTPN22 +1858 C→T 單一核苷酸多形性具有高度的連鎖不平衡 (linkage disequilibrium ; LD) [11]，此單一核苷酸多形性是相對於高加索族群的自體免疫疾病，但是這個單一核苷酸多形性在亞洲人中是幾乎缺乏的 [12]。進一步地，PTPN22 -1123G/C 多形性是位於轉錄因子激活蛋白-4 (activator protein-4 ; AP-4) 結合重複序列的核心基序之關鍵區域 (-¹¹³⁰gcaGCTGaa⁻¹¹²¹) [11]，其結合 AP-4 並且影響 PTPN22 啟動子的轉錄 [13]。然而，PTPN22 -1123G/C 多形性在 LYP 功能上的效應仍然是未知的。

人類 CTLA-4 基因位於染色體 2q33 [14]。在 CTLA-4 基因 exon 1 的 CTLA-4 +49A/G (rs231775) 多形性改變了氨基酸由噁寧氨酸 (threonine ; Thr) 變異成氨基丙酸 (alanine ; Ala) [14]，此多形性也影響了 CTLA-4 在細胞內質網的過程，並且導致其在細胞表面之差異表現 [15]。而 CTLA-4 +49A/G 基因多形性已經是相對於若干自體免疫疾病 [16-18]；一項統合分析 (meta-analysis) 顯示 CTLA-4 +49A/G 多形性在歐洲人中並不是類風濕性關節炎 (rheumatoid arthritis) 的一項危險因子，但是可能對於亞洲人的類風濕性關節炎之易感受性上扮演一個角色，並且建議著此多形性可能與鄰近的致病基因座具有連鎖不平衡 [17]。然而，PTPN22 -1123G/C 與 CTLA-4 +49A/G 多形性在僵直性脊椎炎發展上的效應仍然不

清楚；特別的是，PTPN22 和 CTLA-4 的合併效應在僵直性脊椎炎的發展上尚未被評估。

若干新的單一核苷酸多形性已經在台灣族群中被發現是相關於僵直性脊椎炎 [19-23]，這些研究已經提供了更多的證據建議著非 MHC 基因也貢獻於僵直性脊椎炎的發展。此外，基因因子不僅影響著僵直性脊椎炎的發展，也貢獻於疾病的嚴重程度 [22, 23]。在此，我們評估 PTPN22 -1123G/C 和 CTLA-4 +49A/C 基因型與僵直性脊椎炎的發展和臨床徵狀之相關。

材料與方法

研究對象

我們完整的研究過程均符合赫爾辛基宣言 (Declaration of Helsinki)，研究設計與最終結果是經由台灣台中的中山醫學大學附設醫院之人體試驗委員會的批准。此項以醫院為基礎的病例對照研究於 2002 年 11 月至 2010 年 12 月納入 391 名僵直性脊椎炎病患與 391 名健康對照，所有的僵直性脊椎炎病患和健康對照其知情同意書在任何資料被收集前即被獲得。所有的僵直性脊椎炎病患是就診於中山醫學大學附設醫院風濕科門診，三項篩選準則被使用來納入僵直性脊椎炎病患：(a) 病患年齡介於 16-65 歲，(b) 僵直性脊椎炎的診斷是根據修飾過的 New York 準則 [24]，並且 (c) 認知功能並未受到其他疾病所影響，如癡呆。薦腸骨關節炎 (sacroiliitis) 是由一名合格的放射科醫師所確認，並且僵直性脊椎炎是由一名合格的風濕科醫師所確診。詳細的臨床史，納入了初始症狀發病年齡、僵直性脊椎炎家族史、藥物史、以及脊椎關節外併發症。初始症狀的發病年齡被定義為首次症狀 (脊椎症狀 [axial symptom]、周邊關節炎 [peripheral arthritis]、虹彩炎 [uveitis] 與接骨點發炎 [enthesitis]) 的發病時間。藥物史，被定義為超過三個月的非類固醇抗發炎藥物 (non-steroidal anti-inflammatory drugs; NSAIDs) 或免疫調節劑 (disease modifying anti-rheumatic drugs; DMARDs) 之使用。周邊關節炎被定義為至少有一處腫脹關節的表現，發炎性腸道疾病 (inflammatory bowel disease; IBD) (不同於大腸急躁症) 被定義為當結腸和小腸呈現發炎狀況，包括潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis) 以及克隆氏症 (Crohn's disease)。虹彩炎被定義為眼睛的中介層 (middle layer) 具有發炎的呈現，包括單眼或雙眼。這些症狀是由風濕科醫師、腸胃科醫師、與眼科醫師所確診，並且被記錄於臨床病歷中。

潛在的健康對照是選取於相同醫學中心中執行一般健康檢查的就診病患，他們與病例居住於相同地區，並且沒有明顯的疾病史或異常的實驗室檢查數值。一般健康問卷在樣本收集時被完成，來決定此研究對象是否可作為健康對照。病例與對照被以年齡 (± 5 歲) 與性別進行 1:1 的配對。

巴斯僵直性脊椎炎指數

病患的疾病活性、身體功能、與整體身心狀態被分別以巴斯僵直性脊椎炎疾病活性指數 (Bath Akylosing Spondylitis Disease Activity Index; BASDAI)、巴斯僵直性脊椎炎功能性指數 (Bath Akylosing Spondylitis Functional Index; BASFI)、以及巴斯僵直性脊椎炎健康綜合評分 (Bath Akylosing Spondylitis Global; BAS-G) 來評估，BASDAI、BASFI、與 BAS-G 的修飾後中文版具有良好的觀察者再測信度與內部一致性 [25]。

實驗室分析

周邊血液被收集，並且分離出血清和細胞。紅血球沈降速率 (erythrocyte sedimentation rate; ESR) 與 C-反應蛋白 (C-reactive protein; CRP) 被測量，HLA-B27 狀態是以流式細胞儀 (flow cytometry) 來評估 [26]。

使用 AxyPrep™ Blood Genomic DNA Miniprep Kit (Axygen Scientific Corporation, Union City, CA, USA) 來從周邊血液萃取基因體 DNA。PTPN22 -1123G/C [11] 與 CTLA-4 +49A/G [27] 基因多形性是以聚合酶鏈鎖反應-限制片段長度多形性 (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism; PCR-RFLP) 分析來檢測。用以增幅 PTPN22 基因的引發子為 5'-AGA AAG CCT GAA GAA CTG-3' 和 5'-ACC CAT TGA GAG GTT ATG CGA GCT-3'，DNA (0.5 μ l) 被加入至包含 200 ng 的引發子、1.5 mM MgCl₂、0.2 mM 之去氧核苷三磷酸 (dNTPs)、50 mM KCl、10 mM Tris-HCl (pH 8.3)、以及 0.1% 的胎牛血清白蛋白 (BSA) 的 50 μ l 總體積中。增幅條件包括變性 (94°C 下 45 秒)，接序為 35

回合的重鍊 (58°C 下 45 秒)、以及延展 (72°C 下 1.5 分鐘)。PCR 產物被以 *SacI* 消化，同型合子 CC 個體有一段 171 bp 的產物片段，同型合子 GG 個體有 151 bp 以及 20 bp 片段，並且異型合子 GC 個體有全部三個片段。用以增幅 CTLA-4 基因的引發子為 5'-AAG GCT CAG CTG AAC CTG GT-3' 和 5'-CTG CTG AAA CAA ATG AAA CCC-3'。增幅條件包括變性 (94°C 下 2 分鐘)，接序為 35 回合的重鍊 (56°C 下 2 分鐘)、以及延展 (72°C 下 3 分鐘)。PCR 產物被以 *BstEII* 消化，同型合子 GG 個體有一段 153 bp 產物片段，同型合子 AA 個體有 135 bp 和 18 bp 片段，並且異型合子 AG 個體有全部三段片段。所有基因型的判讀均是在不知道病例或對照組的情況下進行；對於每次實驗，一個不含 DNA 模版的對照也會被加入以監測試劑的污染狀況。在每一個基因多形性判讀後，每個基因型的大約 20% 之樣本被隨機地選取來進行重複實驗以驗證結果。

統計分析

在台灣人中，並沒有 PTPN22 -1123G/C 多形性頻率的數據；因此，我們只以 CTLA-4 +49A/G 基因型來計算樣本數目。在第一型誤差 (α) 程度是 0.05、第二型誤差 (β) 程度是 0.2、以及健康對照的 CTLA-4 +49A/G AA 基因型頻率是 0.13 下 [28]，若欲偵測到相對危險性 (relative risk; RR) 為 1.8，並且病例與對照配對比是 1.0，則所需病例之最小樣本數目是 325。因為少數研究對象可能會失去追蹤 (loss to follow up)，我們增加了額外的研究對象 (~20%)；最後，我們納入了 391 名病例與 391 名經由年齡與性別配對的對照。

僵直性脊椎炎病患和健康對照的人口學特徵和臨床徵狀，若為連續性變項以平均值和標準誤 (standard error; SE) 來呈現；若為類別性變項則以頻率來呈現。藉由適合度檢定 (goodness-of-fit) 來比較所觀察到的 PTPN22 -1123G/C 與 CTLA-4 +49A/G 基因型頻率與期望值，以評定是否符合哈溫平衡 (Hardy-Weinberg equilibrium)。條件式邏輯斯迴歸模式 (conditional logistic regression model) 被使用來計算 PTPN22 -1123G/C 與 CTLA-4 +49A/G 基因型和對偶基因在僵直性脊椎炎發展的獨立和合併效應之配對後的 RR 與 95% 信賴區間 (95% confidence interval; CI)。PTPN22 -1123G/C 與 CTLA-4 +49A/G 基因型在僵直性脊椎炎併發症的盛行率之合併效應也被評估。交互作用被進而藉由概似比檢定 (likelihood ratio test) 以計算 χ^2 值與 p 值；在交互作用的檢定中，將僅具有主效應項 (main effects terms) 的條件式邏輯斯迴歸模式與同時具有主效應項和交互作用項 (interaction terms) 的模式進行比較。所欲分析的基因型在有無周邊關節炎、虹彩炎、乾癬和發炎性腸道疾病的僵直性脊椎炎病患中之分佈，則是以 χ^2 -test 或 Fisher's exact test 來檢定。多變項非條件式邏輯斯迴歸模式被執行於調整可能的干擾因子之效應後，來獲得對於臨床徵狀的調整後勝算比 (odds ratio; OR) 與相對應的 95% 信賴區間。於調整干擾因子之效應後，BASDAI、BASFI、BAS-G、ESR、和 CRP 與 PTPN22 以及 CTLA-4 基因型之間的相關也被進一步地使用廣義線性模式 (general linear model) 來評估。所有的 p 值是以雙尾檢定來計算，SAS 9.1 視窗軟體被使用來分析。

結果

總計，有 391 名僵直性脊椎炎病患 (273 名男性與 118 名女性) 與 391 名經由年齡與性別配對的對照被納入 (表 6-1)。在僵直性脊椎炎病患中，僵直性脊椎炎的初始症狀發病平均年齡是 30.0 歲，平均疾病病程是 11.4 年，並且發病至診斷的平均時間是 5.4 年。此外，49.1% 被診斷有周邊關節炎、27.4% 有虹彩炎、13.0% 有乾癬以及 4.6% 有發炎性腸道疾病，HLA-B27 陽性的僵直性脊椎炎病患數目為 363 名 (92.8%)。ESR 和 CRP 值分別是 25.3 ± 1.0 mm/h 與 1.3 ± 0.1 mg/dl；此外，BASDAI、BASFI、BAS-G 分別是 4.1 公分、2.3 公分、與 4.5 公分。服用 NSAID 與 DMARD 的比例分別是 60.0% 與 32.3%。

PTPN22 -1123G/C 以及 CTLA-4 +49A/G 基因型與對偶基因在僵直性脊椎炎病患與健康對照之頻率，被呈現於表 6-2。在我們的健康對照中，PTPN22 -1123G/C ($p = 0.756$) 與 CTLA-4 +49A/G ($p = 0.156$) 多形性符合哈溫平衡。由於較少攜帶 PTPN22 CC 基因型，我們合併攜帶 PTPN22 CC 和 GC 基因型者以增加統計檢定力。此外，CTLA-4 +49 A 對偶基因相較於 G 對偶基因顯現出對於 T 細胞活化的較差抑制能力 [15]；由於較少的 CTLA-4 AA 基因型攜帶者，我們也將攜帶 CTLA-4 AA 與 GA 基因型者合併。攜帶 PTPN22 CC 與 GC 基因型者相較於 GG 基因型攜帶者分別具有 1.46 倍 (95% CI 0.91-2.35) 和

1.37 倍 (95% CI 1.00-1.89 ; $p = 0.052$) 的僵直性脊椎炎發生之較高危險，雖然這些危險性並不顯著。進一步地，攜帶 PTPN22 CC 和 GC 合併基因型者相較於 PTPN22 GG 基因型攜帶者具有僵直性脊椎炎發生的顯著危險 (RR = 1.39, 95% CI 1.03-1.88)。此外，CTLA-4 AA 和 AG 基因型者分別具有 1.30 倍 (95% CI 0.78-2.18) 與 1.16 倍 (95% CI 0.84-1.60) 僵直性脊椎炎發生之增加危險，但是這些增加的危險性並未達到顯著性。

PTPN22 -1123G/C 和 CTLA-4 +49A/G 多形性的合併效應可能影響僵直性脊椎炎發生的盛行率 (表 6-3)，PTPN22 GG/CTLA-4 GG 基因型者被選為參考組，則 PTPN22 GC/CTLA-4 AA 基因型攜帶者相較於參考組具有 2.58 倍 (95% CI 1.22-5.46) 的僵直性脊椎炎發生之增加危險。因為較少對象同時攜帶 PTPN22 CC/CTLA-4 AA 基因型，我們進一步地合併 PTPN22 CC/CTLA-4 AA 基因型者與 PTPN22 GC/CTLA-4 AA 基因型者。我們觀察到攜帶合併 PTPN22 CC/CTLA-4 AA 或 PTPN22 GC/CTLA-4 AA 基因型者相較於攜帶 PTPN22 和 CTLA-4 基因型其他組合者，具有較高的僵直性脊椎炎發生危險 (RR = 1.90, 95% CI 1.02-3.49)。然而，在 PTPN22 和 CTLA-4 基因型之間並無顯著的交互作用在僵直性脊椎炎的發展上被觀察到。

PTPN22 -1123G/C 和 CTLA-4 +49A/G 多形性在僵直性脊椎炎病患中的發炎性腸道疾病盛行率之效應也被評估 (表 6-4)。這些基因型和周邊關節炎、虹彩炎、或乾癬之發展並無相關性被觀察到。攜帶 PTPN22 CC/GC 基因型者相較於攜帶 PTPN22 GG 基因型者具有較高的發炎性腸道疾病盛行率 (83.3% vs. 63.8%, $p = 0.090$, Fisher's exact test)，雖然此差異並無達到統計顯著。進一步地，發炎性腸道疾病的比例在攜帶 PTPN22 CC/CTLA-4 AA 基因型與 PTPN22 GC/CTLA-4 AA 基因型的僵直性脊椎炎病患和參考組 (PTPN22 和 CTLA-4 基因型之其它組合) 之間是顯著地不同 (27.8% vs 8.6%; $p = 0.020$, Fisher's exact test)。在調整年齡和性別之後，攜帶 PTPN22 CC/CTLA-4 AA 或 PTPN22 GC/CTLA-4 AA 基因型的僵直性脊椎炎病患相較於攜帶 PTPN22 和 CTLA-4 基因型之其它組合者，具有 3.74 倍 (95% CI 1.24-11.26) 的發炎性腸道疾病發生之增加危險。此外，BASDAI、BASFI、BAS-G、ESR、與 CRP 值在 PTPN22 和 CTLA-4 基因型不同組合之僵直性脊椎炎病患中並無顯著差異。

討論

在目前的研究中，我們觀察到 PTPN22 -1123CC/GC 基因型者相較於 PTPN22 GG 基因型者具有顯著較高的僵直性脊椎炎發生危險；攜帶 PTPN22 CC/GC 和 CTLA-4 AA 基因型者相較於攜帶 PTPN22 和 CTLA-4 基因型之其他組合者，具有顯著較高的僵直性脊椎炎盛行率。進一步地，攜帶合併的 PTPN22 CC/GC 和 CTLA-4 AA 基因型之僵直性脊椎炎病患具有顯著較高的發炎性腸道疾病發生危險。

減少的 TCR 訊息已經被證實是在自體免疫疾病發生中的一項重要因子 [1]。PTPN22 和 CTLA-4 基因所轉錄的蛋白主動地參與在調節 T 細胞的活化中 [29]；重要的是，由於 PTPN22 -1123G/C 多形性位於轉錄因子 AP-4 結合重複序列，因而可能影響 TCR 訊息 [11]。在一項挪威人的類風溼性關節炎研究中，PTPN22 -1123CC/GC 基因型者相較於 GG 攜帶者具有較高的類風溼性關節炎危險 [30]。此外，PTPN22 -1123G/C 多形性相關於在日本人和韓國人中的急性發作第一型糖尿病 (acute-onset type 1 diabetes ; T1D) [11]；PTPN22 -1123 C 對偶基因也相關於在捷克和阿澤爾 (Azeri) 族群中的 T1D 之發展、以及在捷克族群中的幼年型特異性關節炎 (juvenile idiopathic arthritis ; JIA) [31]。然而，PTPN22 -1123 C 對偶基因是無關於阿澤爾族群中的幼年型特異性關節炎，這可能是因為較小的樣本數目 [26]。在現今的研究中，我們觀察到 PTPN22 -1123CC/GC 攜帶者相較於 GG 攜帶者有顯著較高的僵直性脊椎炎盛行率，雖然我們的統計檢定力是受限的 (58.5%)。這些結果建議著，PTPN22 -1123 C 對偶基因減弱了 LYP 的活性並且降低 T 細胞活化的抑制能力。然而，並無足夠的證據來證明 PTPN22 -1123G/C 多形性功能的重要性；因此，在其效應上的進一步功能性探討，例如在 PTPN22 轉錄上是需要。CTLA-4 +49A/G 多形性是在 CTLA-4 基因 exon 1 上一項明顯的基因型，並且導致息寧氨酸 (Thr) 至氨基丙酸 (Ala) 的氨基酸置換 [14]。CTLA-4 +49A/G 多形性可能參與在中國漢人族群類風溼性關節炎的易感受性中 [17]，但是此基因型與華人全身性紅斑性狼瘡 (systemic lupus erythematosus ; SLE) [18] 以及日本人類風溼性關節炎 [32] 並無相關性被觀察到。相似於 Lee 等人 [28] 所執行的一項原先研究，CTLA-4 +49A/G 多形性在現今的研究中並未獨立地相關於僵直性脊椎炎的發生。一項原因是我們研究對象其每

個 CTLA-4 +49A/G 基因型的不充足數目，限制了統計檢定力 (18.5%) 去偵測較小的僵直性脊椎炎增加危險。然而，Azizi 等人 [33] 觀察到伊朗僵直性脊椎炎病患相較於對照有較低的 CTLA-4 AA 基因型比率。此歧異可能是種族差異所解釋，在健康的伊朗族群中之 CTLA-4 +49 A 對偶基因頻率為 77.2% [33]，然而我們的健康對照之頻率為 32.7%。因此，CTLA-4 可能僅在特定的族群中擔負起僵直性脊椎炎的一項易感受性基因。此外，CTLA-4 +49A/G 多形性與類風溼性關節炎的相關性被觀察到，並且不相關於全身性紅斑性狼瘡與僵直性脊椎炎的發展，這些不一致的結果之原因可能是由於在致病機轉中的差異。

LYP 蛋白已經被建議，可以單獨或與 CTLA-4 結合以抑制 T 細胞活化 [10, 29, 34]。在目前的研究中，我們觀察到 PTPN22 -1123CC/GC 基因型者相較於 PTPN22 GG 基因型者具有顯著較高的僵直性脊椎炎發生危險 (RR = 1.39, 95% CI 1.03-1.88)；進一步地，攜帶合併的 PTPN22 -1123CC/CTLA-4 +49 AA 以及攜帶合併的 PTPN22 GC/CTLA-4 AA 基因型者相較於 PTPN22 與 CTLA-4 其它合併基因型者具有更明顯的僵直性脊椎炎發生危險 (RR = 2.10, 95% CI 1.07-4.13)。因此，可能是受到 PTPN22 在啟動子的-1123 C 對偶基因所調控之 LYP 蛋白濃度較低，並且與 Grb2 蛋白的較少複合物被呈現來與 CTLA-4 +49AA 基因型所轉錄出的 CTLA-4 蛋白產生交互作用以抑制 T 細胞活化。這些結果暗示著，在 LYP (由 PTPN22 基因所轉錄) 和 CTLA-4 蛋白功能上的同時減少可以導致較差的 T 細胞活化控制。PTPN22 與 CTLA-4 在僵直性脊椎炎致病機轉的功能性角色，需要進一步地釐清以驗證其相關性。此外，僵直性脊椎炎的多項全基因組相關性研究 (genome-wide association study; GWAS) 已經被執行 [35-37]；然而，這些 GWAS 研究並未評估 PTPN22 -1123G/C 與 CTLA-4 +49A/G 多形性在僵直性脊椎炎發生之易感受性。

僵直性脊椎炎的疾病嚴重程度可能也相關於基因特徵 [22, 23]。然而，我們發現 BASDAI、BASFI、BAS-G、ESR、與 CRP 值在 PTPN22/CTLA-4 基因型不同組合的僵直性脊椎炎病患中並無差異。在目前的研究中，我們也觀察到攜帶 PTPN22 -1123G/C CC/CTLA-4 +49 AA 和攜帶 PTPN22 GC/CTLA-4 AA 基因型的僵直性脊椎炎病患具有增加的發炎性腸道疾病之發生危險。腸道黏膜的 T 細胞失調可能會誘導前發炎細胞的分泌，導致發炎性腸道疾病的發生 [38]。一項先前的研究陳述在僵直性脊椎炎病患中，發炎性腸道疾病的盛行率大約為 6% [39]；這相似於在我們的研究中，4.6% 的僵直性脊椎炎病患呈現出發炎性腸道疾病。在現今的研究中，我們觀察到 PTPN22 和 CTLA-4 基因型在僵直性脊椎炎病患的發炎性腸道疾病發生上具有合併效應。我們推論這些基因型可能導致在小腸內的 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 細胞的過度表現，此表現可能由 PTPN22 CC/GC 和 CTLA-4 AA 基因型對於 T 細胞活化的降低抑制功效所產生。這些結果進一步地建議著 LYP 和 CTLA-4 的角色可能在僵直性脊椎炎病患的發炎性腸道疾病之發展中是重要的；然而，具有發炎性腸道疾病的僵直性脊椎炎病患之數目在我們的研究中是較少的，並且這些結果需要較大的樣本數目去釐清。

在現今的研究中，健康對照的 CTLA-4 +49 A 對偶基因頻率 (33.2%) 是接近於一項先前所執行的研究中台灣人健康對照所發現的數值 (40.4%) [31]。在我們的健康對照中，PTPN22 -1123GG 基因型頻率 (43.2%) 也是可比於一項納入日本人正常對象的原先研究所報告的頻率 (42.3%) [11]，並且符合哈溫平衡。此結果確認了在本研究中所使用的基因型方法學之正確性。本研究有一些限制。首先，選樣偏差 (selection bias) 可能發生，因為處於急性期或非急性期的僵直性脊椎炎病患皆被納入於本研究中。其次，可能有引介偏差 (referral bias)，因為我們的所有病患是從單一醫學中心所收集。第三，在我們的研究中僅有 28 名僵直性脊椎炎病患是 HLA-B27 陰性；因此，難以評估 PTPN22 -1123G/C 和 CTLA-4 +49A/G 在 HLA-B27 陰性研究對象的基因效應。最後，我們的結果應該在另外一個獨立的樣本中再一次地被驗證。

總結，PTPN22 -1123G/C 和 CTLA-4 +49A/G 基因多形性可能在僵直性脊椎炎發生上具有合併效應。

參考文獻

1. Tarner IH, Fathman CG. Does our current understanding of the molecular basis of immune tolerance predict new therapies for autoimmune disease? *Nat Clin Pract Rheumatol* 2006;2:491-9.
2. Duftner C, Goldberger C, Falkenbach A, Wurzner R, Falkensammer B, Pfeiffer KP, et al. Prevalence, clinical relevance and characterization of circulating cytotoxic CD4+CD28- T cells in ankylosing spondylitis. *Arthritis Res Ther* 2003;5:R292-300.

3. Schirmer M, Goldberger C, Wurzner R, Duftner C, Pfeiffer KP, Clausen J, et al. Circulating cytotoxic CD8(+) CD28(-) T cells in ankylosing spondylitis. *Arthritis Res* 2002;4:71-6.
4. Cohen S, Dadi H, Shaoul E, Sharfe N, Roifman CM. Cloning and characterization of a lymphoid-specific, inducible human protein tyrosine phosphatase, Lyp. *Blood* 1999;93:2013-24.
5. Cloutier JF, Veillette A. Cooperative inhibition of T-cell antigen receptor signaling by a complex between a kinase and a phosphatase. *J Exp Med* 1999;189:111-21.
6. Schmedt C, Saijo K, Niidome T, Kuhn R, Aizawa S, Tarakhovsky A. Csk controls antigen receptor-mediated development and selection of T-lineage cells. *Nature* 1998;394:901-4.
7. Sharpe AH, Freeman GJ. The B7-CD28 superfamily. *Nat Rev Immunol* 2002;2:116-26.
8. Berg M, Zavazava N. Regulation of CD28 expression on CD8+ T cells by CTLA-4. *J Leukoc Biol* 2008;83:853-63.
9. Marengere LE, Waterhouse P, Duncan GS, Mittrucker HW, Feng GS, Mark TW. Regulation of T cell receptor signaling by tyrosine phosphatase SYP association with CTLA-4. *Science* 1996;272:1170-3.
10. Hill RJ, Zozulya S, Lu YL, Ward K, Gishizky M, Jallal B. The lymphoid protein tyrosine phosphatase Lyp interacts with the adaptor molecule Grb2 and functions as a negative regulator of T-cell activation. *Exp Hematol* 2002;30:237-44.
11. Kawasaki E, Awata T, Ikegami H, Kobayashi T, Maruyama T, Nakanishi K, et al. Systematic search for single nucleotide polymorphisms in a lymphoid tyrosine phosphatase gene (PTPN22): association between a promoter polymorphism and type 1 diabetes in Asian populations. *Am J Med Genet A* 2006;140:586-93.
12. Vang T, Miletic AV, Bottini N, Mustelin T. Protein tyrosine phosphatase PTPN22 in human autoimmunity. *Autoimmunity* 2007;40:453-61.
13. Hu YF, Luscher B, Admon A, Mermod N, Tjian R. Transcription factor AP-4 contains multiple dimerization domains that regulate dimer specificity. *Genes Dev* 1990;4:1741-52.
14. Nistico L, Buzzetti R, Pritchard LE, Van der Auwera B, Giovannini C, Bosi E, et al. The CTLA-4 gene region of chromosome 2q33 is linked to, and associated with, type 1 diabetes. *Belgian Diabetes Registry. Hum Mol Genet* 1996;5:1075-80.
15. Anjos S, Nguyen A, Ounissi-Benkhalha H, Tessier MC, Polychronakos C. A common autoimmunity predisposing signal peptide variant of the cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 results in inefficient glycosylation of the susceptibility allele. *J Biol Chem* 2002;277:46478-86.
16. Ueda H, Howson JM, Esposito L, Heward J, Snook H, Chamberlain G, et al. Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease. *Nature* 2003;423:506-11.
17. Han S, Li Y, Mao Y, Xie Y. Meta-analysis of the association of CTLA-4 exon-1 +49A/G polymorphism with rheumatoid arthritis. *Hum Genet* 2005;118:123-32.
18. Liu MF, Wang CR, Lin LC, Wu CR. CTLA-4 gene polymorphism in promoter and exon-1 regions in Chinese patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2001;10:647-9.
19. Huang CH, Wong RH, Wei JC, Tsay MD, Chen WC, Chen HY, et al. Effects of genetic polymorphisms of programmed cell death 1 and its ligands on the development of ankylosing spondylitis. *Rheumatology* 2011;50:1809-13.
20. Wong RH, Wei JC, Huang CH, Lee HS, Chiou SY, Lin SH, et al. Association of IL-12B genetic polymorphism with the susceptibility and disease severity of ankylosing spondylitis. *J Rheumatol* 2012;39:135-40.
21. Wei JC, Yen JH, Juo SH, Chen WC, Wang YS, Chiu YC, et al. Association of ORAI1 haplotypes with the risk of HLA-B27 positive ankylosing spondylitis. *PLoS One* 2011;6:e20426.
22. Huang CH, Wei JC, Hung PS, Shiu LJ, Tsay MD, Wong RH, et al. Osteoprotegerin genetic polymorphisms and age of symptom onset in ankylosing spondylitis. *Rheumatology* 2011;50:359-65.
23. Wei JC, Lee HS, Chen WC, Shiu LJ, Yang SF, Wong RH. Genetic polymorphisms of the matrix metalloproteinase-3 (MMP-3) and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases-1 (TIMP-1) modulate the development of ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 2009;68:1781-6.
24. van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria. *Arthritis Rheum* 1984;27:361-8.
25. Wei JC, Wong RH, Huang JH, Yu CT, Chou CT, Jan MS, et al. Evaluation of internal consistency and

- re-test reliability of Bath ankylosing spondylitis indices in a large cohort of adult and juvenile spondylitis patients in Taiwan. *Clin Rheumatol* 2007;26:1685-91.
26. Chou CT, Tsai YF, Liu J, Wei JC, Liao TS, Chen ML, et al. The detection of the HLA-B27 antigen by immunomagnetic separation and enzyme-linked immunosorbent assay-comparison with a flow cytometric procedure. *J Immunol Methods* 2001;255:15-22.
 27. Marron MP, Raffel LJ, Garchon HJ, Jacob CO, Serrano-Rios M, Martinez Larrad MT, et al. Insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) is associated with CTLA4 polymorphisms in multiple ethnic groups. *Hum Mol Genet* 1997;6:1275-82.
 28. Lee WY, Chang YH, Lo MK, Chang CP, Yang SC, Yang TP, et al. Polymorphisms of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4 and cytokine genes in Taiwanese patients with ankylosing spondylitis. *Tissue Antigens* 2010;75:119-26.
 29. Brand O, Gough S, Heward J. HLA , CTLA-4 and PTPN22 : the shared genetic master-key to autoimmunity? *Expert Rev Mol Med* 2005;7:1-15.
 30. Viken MK, Olsson M, Flam ST, Forre O, Kvien TK, Thorsby E, et al. The PTPN22 promoter polymorphism -1123G>C association cannot be distinguished from the 1858C>T association in a Norwegian rheumatoid arthritis material. *Tissue Antigens* 2007;70:190-7.
 31. Cinek O, Hradsky O, Ahmedov G, Slavcev A, Kolouskova S, Kulich M, et al. No independent role of the -1123 G>C and+2740 A>G variants in the association of PTPN22 with type 1 diabetes and juvenile idiopathic arthritis in two Caucasian populations. *Diabetes Res Clin Pract* 2007;76:297-303.
 32. Takeuchi F, Kawasugi K, Mori M, Nakae N, Kobayashi N, Kuwata S, et al. The genetic contribution of CTLA-4 dimorphisms in promoter and exon 1 regions in Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2006;35:154-5, 2006.
 33. Azizi E, Massoud A, Amirzargar AA, Mahmoudi M, Soleimanifar N, Rezae N, et al. Association of CTLA4 gene polymorphism in Iranian patients with ankylosing spondylitis. *J Clin Immunol* 2010;30:268-71.
 34. Mustelin T, Alonso A, Bottini N, Huynh H, Rahmouni S, Nika K, et al. Protein tyrosine phosphatases in T cell physiology. *Mol Immunol* 2004;41:687-700.
 35. Australo-Anglo-American Spondyloarthritis Consortium (TASC), Reveille JD, Sims AM, Danoy P, Evans DM, Leo P, et al. Genome-wide association study of ankylosing spondylitis identifies non-MHC susceptibility loci. *Nat Genet* 2010;42:123-7.
 36. Evans DM, Spencer CC, Pointon JJ, Su Z, Harvey D, Kochan G, et al. Interaction between ERAP1 and HLA-B27 in ankylosing spondylitis implicates peptide handling in the mechanism for HLA-B27 in disease susceptibility. *Nat Genet* 2011;43:761-7.
 37. Lin Z, Bei JX, Shen M, Li Q, Liao Z, Zhang Y, et al. A genome-wide association study in Han Chinese identifies new susceptibility loci for ankylosing spondylitis. *Nat Genet* 2011;44:73-7.
 38. Kanai T, Totsuka T, Uraushihara K, Makita S, Nakamura T, Koganei K, et al. Blockade of B7-H1 suppresses the development of chronic intestinal inflammation. *J Immunol* 2003;171:4156-63.
 39. Edmunds L, Elswood J, Kennedy LG, Calin A. Primary ankylosing spondylitis, psoriatic and enteropathic spondyloarthropathy: a controlled analysis. *J Rheumatol* 1991;18:696-8.

表6-1：僵直性脊椎炎病患與健康對照之人口學和臨床特徵

特徵	僵直性脊椎炎病患	健康對照
個數	391	391
性別：男性 (%)	273 (69.8%)	273 (69.8%)
年齡 (歲)	41.4 ± 0.6 ^a	42.5 ± 0.6
臨床表徵		
初始症狀發病年齡 (歲)	30.0 ± 0.7	
疾病病程 (年)	11.4 ± 0.5	
延誤診斷疾病時間 (年)	5.4 ± 0.4	
臨床症狀		
周邊關節炎	192 (49.1%)	
虹彩炎	107 (27.4%)	
乾癬	51 (13.0%)	
發炎性腸道疾病	18 (4.6%)	
實驗室檢查		
HLA-B27 ⁺	363 (92.8%)	
ESR, mm/h	25.3 ± 1.0	
CRP, mg/dl	1.3 ± 0.1	
BASDAI, 公分	4.1 ± 0.1	
BASFI, 公分	2.3 ± 0.1	
BASG, 公分	4.5 ± 0.1	
藥物史		
NSAID使用 (%)	211 (60.0%)	
DMARD使用 (%)	126 (32.2%)	

^a 平均值 ± 標準誤。

表 6-2 : PTPN22 -1123G/C 以及 CTLA-4 +49A/C 基因型和對偶基因在僵直性脊椎炎病患與健

康對照的頻率

特徵		僵直性脊椎炎病患 (n = 391)	健康對照 (n = 391)	相對危險性 (95% CI)	p 值
PTPN22	CC	59 (15.1%)	48 (12.3%)	1.46 (0.91-2.35)	0.122
	GC	194 (49.6%)	174 (44.5%)	1.37 (1.00-1.89)	0.052
	GG	138 (35.3%)	169 (43.2%)	1.00 (Reference)	
	CC/GC	253 (64.7%)	222 (56.8%)	1.39 (1.03-1.88)	0.034
	GG	138 (35.3%)	169 (43.2%)	1.00 (Reference)	
CTLA-4	AA	46 (11.8%)	37 (9.4%)	1.30 (0.78-2.18)	0.317
	AG	197 (50.4%)	186 (47.6%)	1.16 (0.83-1.60)	0.361
	GG	148 (37.8%)	168 (43.0%)	1.00 (Reference)	
	AA/AG	243 (62.1%)	223 (57.0%)	1.18 (0.87-1.61)	0.283
	GG	148 (37.9%)	168 (43.0%)	1.00 (Reference)	

表 6-3：PTPN22 -1123G/C 與 CTLA-4 +49A/C 多形性在僵直性脊椎炎發生上之合併效應

PTPN22 / CTLA-4		僵直性脊椎炎病患	健康對照	相對危險性 (95% CI)	p 值	相對危險性 (95% CI)	p 值
CC	/ AA	5 (1.3%)	4 (1.0%)	1.41 (0.33-5.99)	0.640]1.90 (1.02-3.49) ^a	0.040
GC	/ AA	32 (8.2%)	15 (3.8%)	2.58 (1.22-5.46)	0.013		
GG	/ AA	9 (2.3%)	18 (4.6%)	0.67 (0.28-1.63)	0.380	1.00 (Reference) [†]	
CC	/ AG	31 (7.9%)	25 (6.4%)	1.46 (0.74-2.90)	0.279		
GC	/ AG	96 (24.5%)	87 (22.3%)	1.45 (0.90-2.33)	0.124		
GG	/ AG	70 (17.9%)	74 (18.9%)	1.17 (0.71-1.92)	0.533		
CC	/ GG	23 (5.9%)	19 (4.9%)	1.65 (0.79-3.41)	0.181		
GC	/ GG	66 (16.9%)	72 (18.4%)	1.17 (0.71-1.93)	0.538		
GG	/ GG	59 (15.1%)	77 (19.7 %)	1.00 (Reference)			

^a 合併攜帶 PTPN22 CC/CTLA-4 AA 基因型者與攜帶 PTPN22 GC/CTLA-4 AA 基因型者。

^b CTLA-4 AG、CTLA-4 GG 基因型者、與 PTPN22 GG/CTLA-4 AA 基因型者被合併為參考組。

表 6-4: PTPN22 -1123G/C 與 CTLA-4 +49A/C 多形性在僵直性脊椎炎病患之發炎性腸道疾病盛行率的效應

變項	發炎性腸道疾病		勝算比 (95% CI) ^b
	有 (n = 18)	無 (n = 373)	
<i>PTPN22</i> CC/GC	15 (83.3%)	238 (63.8%)	2.91 (0.83-10.28)
GG	3 (16.7%)	135 (36.2%)	1.00 (Reference)
<i>CTLA-4</i> AA/AG	13 (72.2%)	230 (61.7%)	1.54 (0.54-4.44)
GG	5 (27.8%)	143 (38.3%)	1.00 (Reference)
<i>PTPN22</i> CC/ <i>CTLA-4</i> AA 與 <i>PTPN22</i> GC/ <i>CTLA-4</i> AA 基因型	5 (27.8%)	32 (8.6%) ^c	3.74 (1.24-11.26) ^d
參考組 ^a	13 (72.2%)	341 (91.4%)	1.00 (Reference)

^aCTLA-4 AG、CTLA-4 GG 基因型、與 PTPN22 GG/CTLA-4 AA 基因型者被合併為參考組。

^b多變項非條件式邏輯斯迴歸模式被建構於調整年齡和性別之效應後，來獲得調整後危險對比值與相對應 95% CI。

^c $p = 0.020$ ，Fisher's exact test。

^d $p = 0.019$ 。

第七章 結論與建議

第一節 結論

在台灣，鮮少有研究針對僵直性脊椎炎建立病患資料庫以及探討其相關的流行病學與疾病自然史。現今，我們觀察到性別、發病年齡的早晚、及有無周邊關節炎症狀是相關於僵直性脊椎炎病患臨床症狀的表現。隨著僵直性脊椎炎病程不斷地進展，我們也發現於五年的追蹤期間，僵直性脊椎炎患者的疾病活動程度與身心舒適狀態是隨著時間逐漸地獲得改善，其身體功能狀態是相對地維持不變；性別、發炎性腸道疾病、腰椎活動度、與體內發炎程度亦可能為僵直性脊椎炎患者長期疾病活動程度變化的預測指標，而性別、頸椎與腰椎活動度、以及體內發炎程度則為患者長期身心舒適狀態變化之預測指標。我們的研究也顯示以 CRP 判斷患者疾病活動期狀態的最佳切點濃度為 0.5 mg/dl，並且患者的性別可能會影響 CRP 濃度對於疾病活動程度之判斷。

脊椎的骨質流失是僵直性脊椎炎發生的早期可辨別徵狀，我們的結果顯示 OPG G1181C 基因型可能為僵直性脊椎炎發生之危險因子。HLA-B27 基因可能貢獻於較早的僵直性脊椎炎發病年齡，而 OPG 基因所誘發的骨質流失可能貢獻於較晚的初始症狀發病年齡；此結果可以提供僵直性脊椎炎病患的初始症狀發病年齡之差異的部分解釋。此外，我們也觀察到 OPG G1181C 基因型與僵直性脊椎炎病患所併發的周邊關節炎具有相關；此結果也可以幫助我們更深入地瞭解僵直性脊椎炎病患的周邊關節炎之發生機制。

CTLA-4 與 PTPN22 在自體免疫耐受性的初期扮演著迅速抑制過度活化 T 細胞的角色，而 PD-1 與 PD-L1 和 PD-L2 鍵結的抑制訊息可作用在免疫耐受性的晚期及後續之平衡的維持。結果顯示，PD-1 G-536A GG 和 GA 基因型是相關於僵直性脊椎炎的增加危險，PD-L2 C47103T CT 基因型對於僵直性脊椎炎具有保護的效應；而 PD-1 G-536A、PD-L1 A8923C、以及 PD-L2 C47103T 的合併基因型也明顯地相關於僵直性脊椎炎。PTPN22 -1123G/C 和 CTLA-4 +49A/G 基因多形性在僵直性脊椎炎發生上具有合併效應。我們的結果建議著，PTPN22 -1123 G/C 與 CTLA-4 +49 A/G 基因型和 PD-1 G-536A、PD-L1 A8923C、以及 PD-L2 C47103T 基因型在僵直性脊椎炎的發生具有合併效應。

第二節 未來建議

我們的研究呈現目前台灣僵直性脊椎炎臨床流行病學之現況；而透過疾病自然史之探討，我們也觀察到影響僵直性脊椎炎患者預後之可能因素，這將有助於日後相關介入計畫之發展以及高危險性病患之界定。然而，僵直性脊椎炎的病程時間相當長，現今的研究僅為短期的追蹤研究（約 1 到 5 年的追蹤）；因此未來更長期的追蹤研究仍然是必須的。此外，除了患者的臨床特徵外，其他環境因子如抽菸、教育程度、社經地位與職業活動也都可能相關於患者的疾病情況之變化；並且，研究中亦能再加以探討非類固醇抗消炎止痛劑與免疫調節劑合併使用的效應，以及進一步地追蹤患者其他的預後結果，如糖尿病、人工關節手術與其他併發症。最後，我們也定義判斷整體僵直性脊椎炎患者疾病活動期之最佳 CRP 濃度，期望對於臨床醫師在執行患者疾病狀況之判斷以及治療決策時將有所助益。我們也建議著男性、女性之僵直性脊椎炎患者應該採用不同的 CRP 濃度標準來判斷疾病活動期；而我們的研究結果也需要未來的研究進一步地加以確認與探討。

本研究藉由分子流行病學的設計，探討骨質重塑與免疫耐受性失衡相關基因與僵直性脊椎炎發生和臨床表徵之相關。而未來的研究應深入探討 OPG G1181C、PTPN22 -1123G/C 和 CTLA-4 +49A/G、PD-1 G-536A、PD-L1 A8923C、以及 PD-L2 C47103T 基因型在僵直性脊椎炎發展的功能性。在僵直性脊椎炎的免疫耐受性上，未來研究可加以探討其它周邊耐受性訊息分子與僵直性脊椎炎發展之關係；此外，中央耐受性的訊息傳遞路徑相關分子也值得與僵直性脊椎炎的發展進行探討，以更進一步地釐清僵直性脊椎炎發生的機制。我們現今的研究納入年齡在 18 歲以上的僵直性脊椎炎病患，導致本研究結果可能無法推論到整體僵直性脊椎炎病患，建議未來可以增加幼年型僵直性脊椎炎病患。除了基因因素外，環境暴露因子如細菌感染與僵直性脊椎炎的發生關係，也是目前需要探討的課題之一。細菌感染已被發現與僵直性脊椎炎的 IgA 增加相關，並且使 HLA-B27 陽性攜帶者發病或已發病者惡化；未來的研究可將細菌暴露納入，並且合併基因因素以整體性地探討僵直性脊椎炎的致病機轉。日後所獲得之結果，相信可以提供對於病患醫療處置的參考依據。而我們目前的研究結果，也需要未來的研究進一步地加以確認。

參加2013年日本風濕病學會國際研討會出國報告

過去曾參加過歐洲的風濕免疫研討會，在會議中所學到的不僅對於研究的邏輯思考以實驗技巧的修正都有極大的助益，不過這些研討會往往多從西方的關點來出發。於是，本人此次提出申請參加日本風濕病學會年會與國際研討論壇 (The 57th Annual General Assembly and Scientific Meeting of the Japan College of Rheumatology and the 22nd International Rheumatology Symposium)。此會議於 4 月 18 日至 4 月 20 日在日本京都市的 International Convention Center 舉行，會議的進行包括口頭報告，壁報展示和廠商展示三部分；我們也在 4 月 20 日下午進行壁報展示，向與會學者介紹我們的研究成果。

我們今年於 JCR20123 年會所發表的研究題目是，MicroRNA-155 及其標的基因 MMP-3 在僵直性脊椎炎病患之表現 (Expressions of microRNA-155 and its target gene MMP-3 in the patients with ankylosing spondylitis)。在僵直性脊椎炎發展過程中可以發現脊椎骨和骯髖關節的纖維化與鈣化，並且纖維化的發生可能與發炎反應具有相關；而纖維化可能是過度累積的細胞外基質所造成，基質金屬蛋白酶 (matrix metalloproteinase；MMP)-3 在細胞外基質的降解過程中則扮演著重要的角色。此外，高度表現的微型核糖核酸 (microRNA；miR)-155 可能導致 MMP-3 具有較低的表現。因此，我們執行一項病例對照研究來評估血清 miR-155 與 MMP-3 mRNA 表現對於僵直性脊椎炎發生的效應。我們的結果發現，血清 miR-155 低度表現者與 MMP-3 mRNA 高度表現者分別相較於血清 miR-155 高度表現者與 MMP-3 mRNA 低度表現者具有顯著較高的僵直性脊椎炎發生危險。此外，僵直性脊椎炎病患其血清 miR-155 與 MMP-3 mRNA 表現具有顯著的負相關，病患的血清 miR-155 和 MMP-3 mRNA 表現也分別與骨鈣素濃度具有顯著的

相關性。因此，我們的結果建議血清 miR-155 與 MMP-3 mRNA 的表現可能與僵直性脊椎炎的發生具有相關，並且可能參與在疾病發展過程中的纖維化與鈣化作用。

本次與會，聽取各研究單位的研究成果，最大的收穫是感受到人類基礎研究應用於臨床疾病治療上的貢獻；由於基礎研究之進展，提供了許多免疫疾病新瞭解，以及特別之治療方法。以往對自體疾病之治療，多是使用非特異性之免疫調節劑；可惜的是，此類藥物多有不良之副作用。不過，朝向發展具有專一性可阻斷病理性的免疫反應，並且使得非病理性的免疫反應不受到影響；期望能獲得副作用少、安全性高的較佳治療境界，這都是未來基礎研究者的期盼。關節炎相關疾病的患者主要遭受到各種免疫細胞直接或間接性（如分泌過多腫瘤壞死因子等細胞激素）的攻擊，而日本不論是學界還是業界在生物製劑方面的研究可說是突飛猛進，例如抗腫瘤壞死因子生物製劑已能有效地抑制腫瘤壞死因子，這對於類風濕性節炎與僵直性脊椎炎都具有可觀且快速的治療效果。這些研究觀點，也對於我們的基礎研究之未來發展方向，提供了指引方向。此外，在會議中也可見日本學界對於病患的關懷，包括有類風濕關節炎、僵直性脊椎炎、紅斑性狼瘡、乾癬病等等的病友互助團體，也都齊聚一堂，共同討論。不過，日本在病友的健保給付方面，特別是在生物製劑部分，是比我國來得寬鬆；目前，日本病患如需進行生物製劑的治療約有半數可以申請得到國家之補助，而台灣的病患目前僅約三成可申請得到國家之健保給付。未來，我國這部分的健保給付可以再加以檢討，以求施惠於病患。

這次的會議行程豐富、內容精采，對於本人在研究思路的拓廣、研究的進行及實驗之計畫都有莫大助益。最後建議，希望國科會或教育部能多鼓勵研究學者

參加大型國際學術會議，不僅能吸收新知更能拓展國際觀。

國科會補助計畫衍生研發成果推廣資料表

日期:2013/08/01

國科會補助計畫	計畫名稱: 建立以醫院為基礎的僵直性脊椎炎病患世代, 並且探討骨骼重塑與自體免疫耐受性的可能效應
	計畫主持人: 翁瑞宏
	計畫編號: 99-2314-B-040-019-MY3 學門領域: 公共衛生及環境醫學
無研發成果推廣資料	

99 年度專題研究計畫研究成果彙整表

計畫主持人：翁瑞宏		計畫編號：99-2314-B-040-019-MY3				計畫名稱：建立以醫院為基礎的僵直性脊椎炎病患世代，並且探討骨骼重塑與自體免疫耐受性的可能效應	
成果項目		量化			單位	備註（質化說明：如數個計畫共同成果、成果列為該期刊之封面故事...等）	
		實際已達成數（被接受或已發表）	預期總達成數（含實際已達成數）	本計畫實際貢獻百分比			
國內	論文著作	期刊論文	0	0	100%	篇	
		研究報告/技術報告	0	0	100%		
		研討會論文	4	4	100%		
		專書	0	0	100%		
	專利	申請中件數	0	0	100%	件	
		已獲得件數	0	0	100%		
	技術移轉	件數	0	0	100%	件	
		權利金	0	0	100%	千元	
	參與計畫人力（本國籍）	碩士生	3	3	100%	人次	
		博士生	1	1	100%		
博士後研究員		0	0	100%			
專任助理		0	0	100%			
國外	論文著作	期刊論文	2	3	100%	篇	
		研究報告/技術報告	0	0	100%		
		研討會論文	3	3	100%		
		專書	0	0	100%	章/本	
	專利	申請中件數	0	0	100%	件	
		已獲得件數	0	0	100%		
	技術移轉	件數	0	0	100%	件	
		權利金	0	0	100%	千元	
	參與計畫人力（外國籍）	碩士生	0	0	100%	人次	
		博士生	0	0	100%		
博士後研究員		0	0	100%			
專任助理		0	0	100%			

<p>其他成果 (無法以量化表達之成果如辦理學術活動、獲得獎項、重要國際合作、研究成果國際影響力及其他協助產業技術發展之具體效益事項等，請以文字敘述填列。)</p>	<p>此計畫是建立以醫院為基礎的僵直性脊椎炎病患世代，並且探討骨骼重塑與自體免疫耐受性的可能效應，結果觀察到 HLA-B27 基因可能貢獻於較早的僵直性脊椎炎發病年齡，而 OPG 基因所誘發的骨質流失可能貢獻於較晚的初始症狀發病年齡；此結果可以提供僵直性脊椎炎病患的初始症狀發病年齡之差異的部分解釋，並且此結果獲得 2011 年台灣流行病學學會碩士論文優等獎，此外也被 Rheumatology 國際期刊接受刊載。CTLA-4 與 PTPN22 在自體免疫耐受性的初期扮演著迅速抑制過度活化 T 細胞的角色，而 PD-1 與 PD-L1 和 PD-L2 鍵結的抑制訊息可作用在免疫耐受性的晚期及後續之平衡的維持，結果觀察到 PTPN22 -1123 G/C 與 CTLA-4 +49 A/G 基因型和 PD-1 G-536A、PD-L1 A8923C、以及 PD-L2 C47103T 基因型在僵直性脊椎炎的發生具有合併效應，並且此研究成果也被 Rheumatology 國際期刊接受刊載。</p>
--	---

	成果項目	量化	名稱或內容性質簡述
科 教 處 計 畫 加 填 項 目	測驗工具(含質性與量性)	0	
	課程/模組	0	
	電腦及網路系統或工具	0	
	教材	0	
	舉辦之活動/競賽	0	
	研討會/工作坊	0	
	電子報、網站	0	
	計畫成果推廣之參與(閱聽)人數	0	

國科會補助專題研究計畫成果報告自評表

請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況、研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）、是否適合在學術期刊發表或申請專利、主要發現或其他有關價值等，作一綜合評估。

1. 請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況作一綜合評估

達成目標

未達成目標（請說明，以 100 字為限）

實驗失敗

因故實驗中斷

其他原因

說明：

2. 研究成果在學術期刊發表或申請專利等情形：

論文： 已發表 未發表之文稿 撰寫中 無

專利： 已獲得 申請中 無

技轉： 已技轉 洽談中 無

其他：（以 100 字為限）

3. 請依學術成就、技術創新、社會影響等方面，評估研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）（以 500 字為限）

本研究所獲得之結果，對於國人疾病發生的預防與治療，具有可觀的幫助；並且對於衛生保健機構在制訂相關保健政策及措施時，可提供參考性的數據資料。此外，對於分子醫學的研究也具有基礎面的貢獻，並且本研究結果也可提供未來相關醫藥產業開發的參考依據。