




Disponible en ligne sur  
 ScienceDirect  
 www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France  
  
 www.em-consulte.com



Article original

## Les anticorps anti-CCP sont associés avec un âge de début précoce de la polyarthrite rhumatoïde<sup>☆</sup>

Francisco J. Diaz<sup>a</sup>, Adriana Rojas-Villarraga<sup>b</sup>, Juan C. Salazar<sup>c</sup>, Antonio Iglesias-Gamarra<sup>d</sup>, Ruben D. Mantilla<sup>b,e</sup>, Juan-Manuel Anaya<sup>b,\*</sup>

<sup>a</sup> Département de biostatistiques, université médicale du Kansas, Kansas, États-Unis

<sup>b</sup> Centre de recherche des maladies auto-immunes (CREA), école de médecine et de santé, université del Rosario, Carrera 24 # 63C-69, Bogotá, Colombie

<sup>c</sup> Département de statistiques, université nationale de Colombie, Medellin, Colombie

<sup>d</sup> Unité de rhumatologie, université nationale de Colombie, Medellin, Colombie

<sup>e</sup> Unité de rhumatologie, Riesgo de Fractura, CAYRE IPS, Bogotá, Colombie

### INFO ARTICLE

Historique de l'article :

Accepté le 8 juillet 2010

Disponible sur Internet le 9 décembre 2010

Mots clés :

Polyarthrite rhumatoïde

Âge

HLA-DRB1

<sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup>

Facteur rhumatoïde

Anticorps anti-CCP

Tabagisme

### RÉSUMÉ

**Objectifs.** – Déterminer les facteurs influençant l'âge de début de la polyarthrite rhumatoïde (PR).

**Méthodes.** – Nous avons étudié un échantillon de 152 patients colombiens atteints de PR. Les rapports des risques instantanés (*hazard ratio* [HR]), qui mesurent l'effet taille des facteurs de risque sur l'âge de survenue de la PR ont été calculés en utilisant des modèles de régression de Cox.

**Résultats.** – La présence d'anticorps anti-CCP était associée avec une augmentation du risque de survenue d'un début précoce de la PR (HR = 1,60 ; IC95 % : 1,06–2,40). À l'inverse, la présence de la séquence protectrice <sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup> était associée à un âge de début plus tardif de la PR (HR = 0,55 ; IC95 % : 0,33–0,92). Après ajustement pour les anti-CCP et la séquence <sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup>, les variables suivantes n'avaient pas d'influence significative sur l'âge de début de la PR : sexe, tabagisme, antécédent familial de PR, polymorphisme du gène *TNF-308A*, épitope HLA partagé, présence du facteur rhumatoïde.

**Conclusion.** – Les anticorps anti-CCP et la séquence <sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup> de HLA-DRB1 influencent l'âge de début de la PR.

© 2010 Publié par Elsevier Masson SAS pour la Société Française de Rhumatologie.

### 1. Introduction

L'âge de début de la polyarthrite rhumatoïde (PR) est influencé par des facteurs génétiques [1], hormonaux [2], immunologiques et environnementaux [3]. Les facteurs de risque génétiques sont tenus pour responsables de près de 50 à 60% du risque de PR [4], et le gène *HLA-DRB1* a été associé sans équivoque à la susceptibilité de développer une PR. Les anticorps anti-peptides cycliques citrullinés (anti-CCP) ont été l'objet d'une attention particulière, dans la mesure où ils représentent une aide au diagnostic de PR : si leur sensibilité reste modérée, leur spécificité est élevée et plus importante que celle du facteur rhumatoïde (FR) [5]. Les anti-CCP peuvent être détectés à des stades très précoces de la maladie et peuvent servir de facteurs prédictifs de l'évolution et du pronostic [6]. Le but de cette étude a été

d'évaluer les effets des caractéristiques démographiques, immunologiques et immunogénétiques sur l'âge de survenue de la PR.

### 2. Méthodes

#### 2.1. Population de l'étude

Nous avons analysé un échantillon de patients colombiens atteints de PR. Il s'agissait de 152 patients consécutifs pris en charge dans trois centres colombiens : l'unité d'immunologie clinique et de rhumatologie du Clínica Universitaria Bolivariana-Corporación para Investigaciones Biológicas de Medellin, le centre de recherche sur les maladies auto-immunes de l'école de médecine de l'université de Rosario et l'unité de rhumatologie de l'école de médecine de l'Université nationale de Colombie de Bogotá. Tous les patients étaient atteints d'une PR répondant aux critères de classification de l'American College of Rheumatology [7], et ayant débuté à partir de l'âge de 17 ans. Seuls les patients ayant un diagnostic confirmé de PR ont été inclus dans l'échantillon. L'étude a été approuvée par les comités d'investigation et les comités d'éthique locaux. Tous les patients ont fourni leur consentement éclairé par écrit.

<sup>☆</sup> Ne pas utiliser, pour citation, la référence française de cet article, mais sa référence anglaise dans le même volume de *Joint Bone Spine* (doi:10.1016/j.jbspin.2010.07.014).

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : anayajm@gmail.com (J.-M. Anaya).

**Tableau 1**

Caractéristiques cliniques et démographiques de 152 patients du nord-ouest de la Colombie atteints de polyarthrite rhumatoïde (PR).

Caractéristiques	Moyenne ± déviation standard
Âge de début de la PR (ans)	42 ± 14 <sup>a</sup>
Ancienneté de la PR (ans) <sup>b</sup>	8,5 ± 7,3
	% (n)
Sexe féminin	85 (129/152)
Tabagisme ancien ou en cours <sup>c</sup>	22 (33/152)
Auto-anticorps	
Facteur rhumatoïde	73 (103/141)
Anti-CCP	78 (119/152)
Facteurs génétiques	
Antécédent familial de PR	7 (10/151)
Allèle codant pour <sup>70</sup> DERAA <sup>74</sup>	11 (17/152)
Épitope partagé de HLA-DRB1 <sup>d</sup>	51 (78/152)
Allèle TNF-308A	26 (38/149)

<sup>a</sup> Les valeurs médianes, les 25<sup>e</sup> et 75<sup>e</sup> percentiles étaient respectivement de 40, 32 et 52.

<sup>b</sup> Ancienneté de la maladie au moment de l'analyse sérologique.

<sup>c</sup> Le tabagisme passé ou en cours a été évalué par un questionnaire validé rempli par le patient et défini par le fait d'avoir fumé au moins un paquet-année au cours de la vie [7].

<sup>d</sup> Présence d'au moins un des allèles portant l'épitope partagé en au moins un exemplaire.

Les caractéristiques de cette population sont exposées dans le **Tableau 1**.

## 2.2. Variables

Les données démographiques, cliniques et biologiques ont été recueillies comme précédemment rapporté [8–9] et collectées sous forme standardisée. L'âge de début de la PR a été défini comme l'âge auquel les patients ont commencé à souffrir de douleurs, de raideur matinale ou d'une inflammation cliniquement confirmée des articulations des mains et/ou des pieds de manière symétrique. Un antécédent familial de PR a été retenu quand une PR était confirmée cliniquement chez au moins un des parents au premier degré [6].

Le polymorphisme mononucléotidique (*single nucleotide polymorphism* [SNP]) du gène du TNF-308 A/G a été typé par *polymerase chain reaction* (PCR) [10]. Le typage HLA-DRB1 a été effectué par hybridation avec la méthode dot-blot inverse (Inno-LipA assay) [11]. Le statut HLA-DRB1 a été classé selon la présence de l'épitope partagé (*shared-epitope* [SE]) ou par celle des motifs <sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup>, comme décrit par ailleurs [9,11].

Le FR a été mesuré par turbidimétrie. La mesure des anti-CCP a été effectuée à l'aide d'un kit Elisa utilisant un test de troisième génération (anti-CCP3) selon les recommandations du fabricant (QUANTA-Lite, INOVA, San Diego, Californie).

**Tableau 2**

Variables significativement associées à l'âge de début de la polyarthrite rhumatoïde chez des patients colombiens (modèle de Cox).

Variables <sup>a,b</sup>	$\beta^c$	IC95% <sup>d</sup>	Valeur de p	Risque relatif ( <i>hazard ratio</i> )	IC95% <sup>d</sup>
Présence d'anticorps anti-CCP	0,47	(0,006–0,88)	0,02	1,6 <sup>e</sup>	(1,06–2,4)
Séquence <sup>70</sup> DERAA <sup>74</sup>	–0,59	(–1,10 ; –0,08)	0,02	0,55 <sup>f</sup>	(0,33–0,92)

<sup>a</sup> Le modèle de Cox était  $\log \{h(t)\} = \log \{h_0(t)\} + 0,47X_1 - 0,59X_2$ , où  $X_1$  = être anti-CCP positive,  $X_2$  = être porteur de HLA <sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup>,  $h(t)$  est le risque de début de la PR à un âge  $t$  pour un patient qui développera une PR et où  $h_0(t)$  est le risque de début de la PR à un âge  $t$  pour un sujet n'ayant pas d'anti-CCP, ni de séquence <sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup> et qui développera une PR. Test de risques proportionnels pour la positivité des anti-CCP,  $p = 0,91$  ; pour la séquence <sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup>,  $p = 0,90$ .

<sup>b</sup> Les variables indépendantes incluses dans le modèle de Cox étaient dichotomiques (1 = positif ; 0 = négatif).

<sup>c</sup> Les nombres de cette colonne sont les coefficients de régression de Cox.

<sup>d</sup> Intervalle de confiance à 95 % pour le risque  $\beta$ .

<sup>e</sup> Le risque relatif et l'IC95 % sont ajustés pour la présence de la séquence <sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup>.

<sup>f</sup> Le risque relatif et l'IC95 % sont ajustés pour la positivité des anticorps anti-CCP.

## 2.3. Analyse statistique

Un modèle de régression de Cox pour l'âge de début de la PR a été créé en utilisant le logiciel informatique SAS [12] et une procédure de sélection rétrograde. L'âge de début de la PR était l'équivalent du temps de survie. Un modèle incluant toutes les variables potentielles indépendantes a été initialement établi. Puis la variable la moins significative était éliminée et le modèle était construit avec les variables restantes. Ce processus a été poursuivi jusqu'à ce que toutes les variables présentes dans le modèle soient significatives au niveau de 0,05 [13]. Les variables suivantes ont été prises en compte dans le modèle initial : porteur de l'allèle TNF-308 A, porteur des allèles de l'épitope partagé de HLA-DRB1, présence de la séquence HLA d'acide aminé <sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup>, FR positif à un titre supérieur à 40 U/ml, anti-CCP positifs à un titre supérieur à 60 U, antécédent familial de PR, tabagisme (passé et/ou présent), sexe féminin. La validité de l'ajustement du modèle de Cox a été examinée en utilisant le test du *log-cumulative-hazard plots* et le test de supremum de type Kolmogorov. Le modèle final était satisfaisant. La taille de l'effet d'une variable indépendante significative vis-à-vis de l'âge de début de la PR a été mesurée comme le rapport des risques instantanés ou *hazard ratio* (HR) correspondant à la variable [13]. Les valeurs de HR et des intervalles de confiance à 95 % (IC95 %) ont été ainsi calculées. Les résultats ayant une valeur de  $p$  inférieure à 0,05 ont été considérés comme significatifs.

## 3. Résultats

L'âge de début de la PR était de 42 ± 14 ans (moyenne ± écart-type) (**Tableau 1**). Les variables significativement associées à l'âge de début de la PR dans le modèle de Cox sont présentées dans le **Tableau 2**. La présence d'anticorps anti-CCP3 était significativement associée à un âge de début de la PR plus jeune, après ajustement pour la présence de la séquence <sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup> ( $p = 0,02$  ; **Tableau 2**). La présence de la séquence <sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup> était significativement associée à un âge de début de la PR plus élevé après ajustement pour les anti-CCP3 ( $p = 0,02$ ). Chez les patients possédant la séquence <sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup> et n'ayant pas d'anti-CCP3, l'âge de début de la PR était de 45 ± 19,5 ans. Chez ceux possédant la séquence <sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup> et ayant des anti-CCP3, elle était de 51,4 ± 13,3 ans. Chez les patients ne possédant pas la séquence <sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup> et n'ayant pas d'anti-CCP3, elle était de 45,7 ± 15,6 ans. Enfin, chez ceux ne possédant pas la séquence <sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup> mais ayant des anti-CCP3, elle était de 39,5 ± 12,1 ans.

Le HR de survenue d'une PR chez des patients du même âge, associé à la présence des anti-CCP3 après ajustement pour la présence de la séquence <sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup>, était de 1,60 (**Tableau 2**). Ainsi, à n'importe quel âge après 17 ans, le risque de survenue d'une PR chez un patient porteur d'anticorps anti-CCP3 était de 60 % supérieur à celui de patients sans anti-CCP3. De même, le HR lié à la présence de la séquence <sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup>, après ajustement pour la positivité des anti-CCP3, était de 0,55. Ainsi, à n'importe quel âge après

**Tableau 3**

Caractéristiques cliniques et génétiques des patients colombiens ayant une polyarthrite rhumatoïde, selon le statut des anticorps anti-CCP.

Caractéristiques	Anti-CCP3 positifs (n = 119)	Anti-CCP3 négatifs (n = 33)
Sexe féminin	86 (102/119)	82 (27/33)
Tabagisme (passé ou présent)	21 (25/119)	24 (8/33)
Antécédent familial de PR	8 (9/119)	3 (1/32)
Facteur rhumatoïde positif	81 (91/112) <sup>a</sup>	41 (12/29)
Présence de la séquence <sup>70</sup> DERAA <sup>74</sup>	11 (13/119)	12 (4/33)
HLA-DRB1*0404	20 (24/119)	6 (2/33)
HLA-DRB1*0401/0404	0,8 (1/119)	0 (0/33)
HLA-DRB1 <sup>70</sup> QKRAA <sup>74</sup> SE	0,9 (1/114)	3 (1/33)
HLA-DRB1 <sup>70</sup> RRRAA <sup>74</sup> SE	0 (0/114)	3 (1/33)
HLA-DRB1 <sup>70</sup> QRRRAA <sup>74</sup> SE	47 (54/114)	48 (16/33)
Épitope partagé HLA-DRB1 <sup>b</sup>	50 (60/119)	55 (18/33)
Allèle TNF-308 A	26 (30/117)	25 (8/32)

Résultats présentés en pourcentage (nombre).

<sup>a</sup> OR : 6,14 (IC95 % = 2,55–14,77),  $p < 0,0001$ . Aucune autre différence significative n'a été observée, mais une tendance chez les patients porteurs de HLA-DRB1\*0404 ( $p = 0,06$ ).<sup>b</sup> Sujets porteurs d'au moins un exemplaire de l'épitope partagé.

17 ans, le risque de survenue d'une PR chez des patients porteurs de la séquence <sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup> était de 45 % inférieur à celui des patients non porteurs de cette séquence.

Après ajustement, à la fois pour la présence des anti-CCP3 et pour celle de la séquence <sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup>, aucune autre des variables étudiées n'était associée significativement à l'âge de survenue de la PR. Nous avons observé une tendance à une association entre HLA-DRB1\*0404 et la présence d'anti-CCP3 (Tableau 3). Il n'existait pas de différence significative de la fréquence des allèles de l'épitope partagé selon la présence ou l'absence des anti-CCP3 (respectivement 50 et 55 %). En revanche, il y avait une différence statistiquement significative de la fréquence du FR entre les patients possédant ou non des anti-CCP3 (respectivement 81 % vs 41 % ; OR = 6,14 ; IC95 % : 2,55–14,77 ;  $p < 0,001$ ).

L'ancienneté moyenne ( $\pm$  écart-type) de la PR au moment des prélèvements sérologiques était de  $8,5 \pm 7,3$  ans. Une analyse supplémentaire par un modèle de régression de Cox a montré qu'il n'existait pas d'association entre l'ancienneté de la PR et les variables significatives exposées dans le Tableau 2. Les HR du Tableau 2 n'étaient pas modifiés de manière substantielle après l'inclusion de l'ancienneté de la PR dans le modèle.

#### 4. Discussion

Le principal résultat de cette étude est le suivant : les patients atteints de PR et possédant des anticorps anti-CCP ont débuté leur PR à un âge plus jeune que ceux ne possédant pas ces anticorps. Cette observation a été faite sur un échantillon de patients colombiens, qui est une population mélangée et vivant sous des tropiques. Toutefois, une association entre la présence des anti-CCP et un plus jeune âge de début de la PR avait déjà été observée dans une population de 468 patients suédois chez lesquels la prévalence des anti-CCP était de 67,9 % [14]. Dans une population de 411 patients espagnols, où la prévalence des anti-CCP était de 54 %, il avait été observé une tendance à l'association entre anti-CCP et âge de survenue de la PR, mais cette tendance disparaissait après prise en compte de l'ancienneté de la PR [15].

Même s'il existe d'importantes différences de caractéristiques entre les populations rapportées dans la littérature, ainsi que dans les valeurs seuils qui ont été utilisées pour définir la positivité des anti-CCP, la recherche d'anti-CCP est particulièrement utile au diagnostic de PR et sa positivité est très spécifique [16]. Habituellement, les anti-CCP sont présents avant le début des symptômes de la PR suggérant ainsi une rupture précoce de la tolérance vis-à-vis des molécules citrullinées au cours de la PR [17]. Des études récentes suggèrent que les PR avec anti-CCP et les PR séronégatives pourraient avoir une physiopathologie différente [18].

Dans notre population colombienne, la présence de la séquence <sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup> était protectrice vis-à-vis du jeune âge de début de la PR. Il a été suggéré que la présence de la séquence allélique <sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup> protégeait vis-à-vis de l'apparition et de la sévérité de la PR [19]. Un modèle basé sur des études expérimentales et cliniques, connu sous le nom d'hypothèse de protection de la PR, postule que les molécules HLA-DQ prédisposent à la PR et que les molécules HLA-DR (<sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup>) peuvent moduler la sévérité de la maladie en étant à l'origine d'auto-antigènes eux-mêmes présentés dans le contexte des molécules HLA-DQ [20]. La prévalence de la séquence <sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup> au cours de la PR varie de 8 à 16 % [20]. Cette variabilité est indépendante de la présence des molécules HLA-DQ ou de la présence de l'épitope partagé. Dans notre étude, elle était de 11 % (Tableau 1). Il a été récemment observé au sein d'une cohorte nord-américaine de polyarthrites récentes que la séquence <sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup> représentait un puissant facteur prédictif indépendant d'un meilleur pronostic de la PR [21].

Dans notre population de patients colombiens, nous n'avons pas observé d'association significative entre les allèles porteurs de l'épitope partagé et la positivité des anti-CCP3 (Tableau 3), cette association ayant été précédemment rapportée dans la littérature. Cela pourrait être la conséquence d'un échantillon insuffisant de patients ou d'un effet modeste de HLA sur la synthèse des anti-CCP au sein de notre population, car l'influence du génotype sur le phénotype varie selon les populations [6].

Si les sujets ayant un antécédent familial de PR ou porteurs de l'allèle à risque HLA-DRB1 sont considérés comme étant à haut risque de développer une PR [22–23], notre étude n'a pas retrouvé d'association entre ces facteurs et un âge de début précoce de la PR. Après ajustement pour les variables significatives, nous n'avons pas observé d'effet favorisant du tabagisme en général (passé ou présent) sur l'âge de début de la PR, bien qu'un effet du tabagisme en cours sur l'âge de début de la PR ait été rapporté précédemment [3].

En conclusion, les anticorps anti-CCP et la séquence <sup>70</sup>DERAA<sup>74</sup> de HLA-DRB1 influencent l'âge de survenue de la PR chez les patients colombiens. Des études prospectives sont nécessaires pour analyser si cette observation peut être utile pour prédire la survenue précoce de la PR chez des patients génétiquement prédisposés, ainsi que pour concevoir des stratégies de prévention de l'apparition de la PR.

#### Conflit d'intérêt

Les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêt.

## Remerciements

Cette étude a reçu le support de Colciencias (1101-04-14156, à AIG, et 186/2007 à FJD et JCS) et de l'Université nationale de Colombie (DIB-809275), ainsi qu'un financement de la part de Lafrancol S.A.S. et de l'École de médecine et des sciences de la santé, Université del Rosario, Bogotá, Colombie. Nous remercions Tom W.J. Huizinga pour ses précieux conseils et Oscar Ortega pour son aide.

## Références

- [1] MacGregor A, Ollier W, Thomson W, et al. HLA-DRB1\*0401/0404 genotype and rheumatoid arthritis: increased association in men, young age at onset, and disease severity. *J Rheumatol* 1995;22:1032–6.
- [2] Goemaere S, Ackerman C, Goethals K, et al. Onset of symptoms of rheumatoid arthritis in relation to age, sex and menopausal transition. *J Rheumatol* 1990;17:1620–2.
- [3] Hutchinson D, Lynch MP, Moots RJ, et al. The influence of current cigarette smoking on the age at onset of rheumatoid arthritis (RA) in individuals with sporadic and familial RA. *Rheumatology (Oxford)* 2001;40:1068–70.
- [4] MacGregor AJ, Snieder H, Rigby AS, et al. Characterizing the quantitative genetic contribution to rheumatoid arthritis using data from twins. *Arthritis Rheum* 2000;43:30–7.
- [5] Caro-Oleas JL, Fernández-Suárez A, Reneses Cesteros S, et al. Evaluation of third generation anti-CCP antibodies in the diagnosis of rheumatoid arthritis from undifferentiated polyarthritis after 4 years of follow-up. *Clin Exp Rheumatol* 2008;26:461–3.
- [6] Rojas-Villarraga A, Diaz FJ, Calvo-Páramo E, et al. Familial disease, the HLA-DRB1 shared epitope and anti-CCP antibodies influence time at appearance of substantial joint damage in rheumatoid arthritis. *J Autoimmun* 2009;32:64–9.
- [7] Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988;31:315–24.
- [8] Anaya JM, Correa PA, Mantilla RD, et al. Rheumatoid arthritis in African Colombians from Quibdo. *Semin Arthritis Rheum* 2001;31:191–8.
- [9] Rojas-Villarraga A, Ortega-Hernandez OD, Gomez LF, et al. Risk factors associated with different stages of atherosclerosis in Colombian patients with rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum* 2008;38:71–82.
- [10] Correa PA, Gomez LM, Cadena J, et al. Autoimmunity and tuberculosis. Opposite association with TNF polymorphism. *J Rheumatol* 2005;32:219–24.
- [11] Anaya JM, Correa PA, Mantilla RD, et al. Rheumatoid arthritis association in Colombian population is restricted to HLA-DRB1\*04:QRRAA alleles. *Genes Immun* 2002;3:56–8.
- [12] Allison PD. *Survival analysis using the SAS system: a practical guide*. Cary, NC: SAS Institute Inc; 1998.
- [13] Woodward MW. *Epidemiology. Study design and data analysis*. Boca Raton: Chapman & Hall/C; 1999.
- [14] Kokkonen H, Johansson M, Innala L, et al. The PTPN22 1858C/T polymorphism is associated with anti-cyclic citrullinated peptide antibody-positive early rheumatoid arthritis in northern Sweden. *Arthritis Res Ther* 2007;9:R56.
- [15] Varadé J, Loza-Santamaría E, Fernández-Arquero M, et al. Shared epitope and anti-cyclic citrullinated peptide antibodies: relationship with age at onset and duration of disease in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2009;36:1085–6.
- [16] Avouac J, Gossec L, Dougados M. Diagnostic and predictive value of anti-cyclic citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: a systematic literature review. *Ann Rheum Dis* 2006;65:845–51.
- [17] Nielen MM, van Schaardenburg D, Reesink HW, et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum* 2004;50:380–6.
- [18] van Oosterhout M, Bajema I, Levarht EW, et al. Differences in synovial tissue infiltrates between anti-cyclic citrullinated peptide-positive rheumatoid arthritis and anti-cyclic citrullinated peptide-negative rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2008;58:53–60.
- [19] Van der Helm-van Mil AH, Huizinga TW, Schreuder GM, et al. An independent role of protective HLA class II alleles in rheumatoid arthritis severity and susceptibility. *Arthritis Rheum* 2005;52:2637–44.
- [20] de Vries R, Huizinga TWH, Toes REM. HLA and RA Revisited: Citrullinated food for the SE hypothesis, the DR6 effect, and NIMA. *Human Immunol* 2006;67:454–9.
- [21] Carrier N, Cossette P, Daniel C, et al. The DERA HLA-DR alleles in patients with early polyarthritis: protection against severe disease and lack of association with rheumatoid arthritis autoantibodies. *Arthritis Rheum* 2009;60:698–707.
- [22] Gregersen PK, Silver J, Winchester RJ. The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1987;30:1205–13.
- [23] Lin JP, Cash JM, Doyle SZ, et al. Familial clustering of rheumatoid arthritis with other autoimmune diseases. *Hum Genet* 1998;103:475–82.