

特別講演



関節リウマチにおける抗シトルリン化
ペプチド抗体の意義
Significance of anti-citrullinated peptide
antibodies in rheumatoid arthritis

沢田 哲治
Tetsuji SAWADA

東京医科大学リウマチ・膠原病内科学分野
Department of Rheumatology, Tokyo Medical University

はじめに

関節リウマチ (rheumatoid arthritis, RA) は関節滑膜を病変の主座とする自己免疫疾患である。関節包を裏打ちする一層の薄い膜である滑膜の慢性炎症により関節が紡錘状に腫脹する。さらに、増殖した滑膜により骨が侵食され骨びらんをきたし、同時に滑膜が産生する matrix metalloproteinase (MMP)-3 などの蛋白分解酵素が軟骨基質を分解して関節裂隙の狭小化をきたす¹⁾。疫学的には、罹患率は 0.5-1%²⁾、男女比は 1:3~4 で女性に多く、発症年齢は従来 40 歳代での発症が多いと報告されていたが、近年高齢発症が増加している³⁾。病因的には多因子疾患であり、ゲノムワイド関連解析によりヒト白血球抗原 (HLA) クラス 2 をコードする HLA-DRB1 遺伝子に加えて、多数の non-HLA 遺伝子が RA 発症の遺伝的要因として同定されている⁴⁾。一方、環境要因としては、喫煙、歯周病、肥満などが重要である⁵⁾。

RA を放置すると、少なからぬ割合の患者で関節破壊が進行し、身体機能障害に至る。近年メトトレキサートを中心とする抗リウマチ薬の普及ならびに生物学的製剤・分子標的薬の登場により、RA 治療

体系は大きく進歩し、関節破壊の回避と身体機能の維持を治療目標とすることが可能となった。これには、早期診断と Treat to target (T2T: 目標達成に向けた治療) に基づく治療の実践が求められる⁶⁾。本稿では、早期診断や予後予測に有用な抗シトルリン化ペプチド抗体の臨床的意義について概説する。

翻訳後修飾—シトルリン化

シトルリン化は翻訳後修飾のひとつであり、シトルリン化ペプチドは peptidylarginine deiminase (PAD) によりアルギニン残基が脱イミノ化されることで生成される。塩基性アミノ酸であるアルギニン (陽性荷電) がシトルリン (中性) に置換されることによりペプチドの立体構造や分子間相互作用に変化が生じうる (図 1)。シトルリン化ペプチドの生理的役割としては、ヒストンの脱メチル化による遺伝子発現制御や好中球細胞外トラップ (NETs) 形成、細胞の多能性調節などが知られている。一方、病的意義としてはアルツハイマー病や多発性硬化症の病態形成への関与などが報告されているが、最も重要なのは RA の自己抗原としての役割である⁷⁻⁹⁾。PAD には 5 種類のアイソフォームがあるが、PAD4

令和 4 年 6 月 18 日 第 189 回東京医科大学医学会総会における特別講演

キーワード: rheumatoid arthritis, autoantibodies, citrullination, peptidylarginine deiminase

(連絡先: 内線 62166)

TEL: 03-3342-6111 FAX: 03-5381-6653

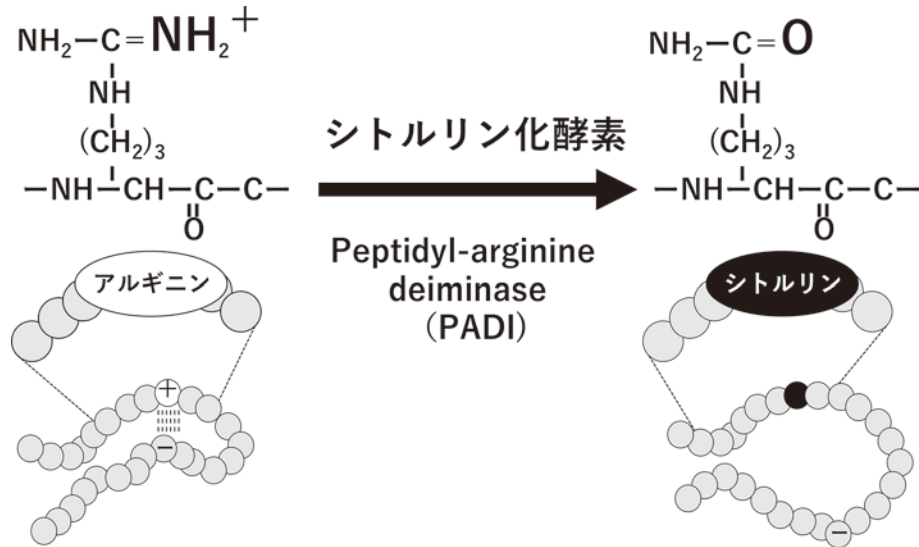


図1 シトルリン化

翻訳後修飾のひとつで、シトルリン化酵素 (peptidylarginine deiminase, PAD) によりペプチド中のアルギニン残基 (陽性電荷) が脱イミノ化されシトルリン残基 (中性電荷) に変換される。分子量は不変であるが、ペプチドの荷電状況が変化するためにペプチドの立体構造や分子間相互作用に変化が生じる。抗シトルリン化ペプチド抗体は元のアルギニンペプチドとは反応せず、シトルリン化修飾を受けたペプチドとのみ反応する。

をコードする PADI4 遺伝子多型が RA の疾患感受性遺伝子であることを 2003 年にゲノムワイド関連解析 (Genome wide association study, GWAS) により明らかにした¹⁰⁾。この RA と関連する遺伝子多型はアミノ酸置換ではなく mRNA 量に影響する expression quantitative trait locus (eQTL) 効果を呈する多型であり、CD4 陽性 T 細胞において PADI4 遺伝子の発現が亢進することが示されている¹¹⁾。

抗シトルリン化ペプチド抗体

抗環状シトルリン化ペプチド (cyclic citrullinated peptide, CCP) 抗体はシトルリン化ペプチドを特異的に認識する自己抗体の一つである。抗 CCP 抗体が認識する抗原エピトープは、シトルリン残基があれば良いというわけではなく、シトルリン (Cit) に隣接するアミノ酸の配列も重要で Cit-Gly、Gly-Cit、Arg-Cit-Asp などのモチーフが想定されている¹²⁾。

RA と抗シトルリン化ペプチド抗体 (anti-citrullinated peptide antibody, ACPA) に関する研究は 1964 年のヒト頬粘膜と反応する anti-perinuclear factor (APF) や 1979 年のラット食道上皮細胞と反応する抗ケラチン抗体 (AKA) の報告にまで遡る¹³⁾¹⁴⁾。APF や AKA の感度は 5 ~ 6 割程度で特異度は 90% 以上と優れていたが、あまり注目されなかった。その後 20 年を経て 1998 年にこれらの自己抗体が認識するのはシトルリン化フィラグリンであることが明

らかにされ¹⁵⁾、シトルリン化フィラグリンのアミノ酸配列に基づく第 1 世代抗 CCP 抗体が開発された (図 2)。さらに、シトルリンを含む合成ペプチドライブラリーのスクリーニングにより第 1 世代の高い

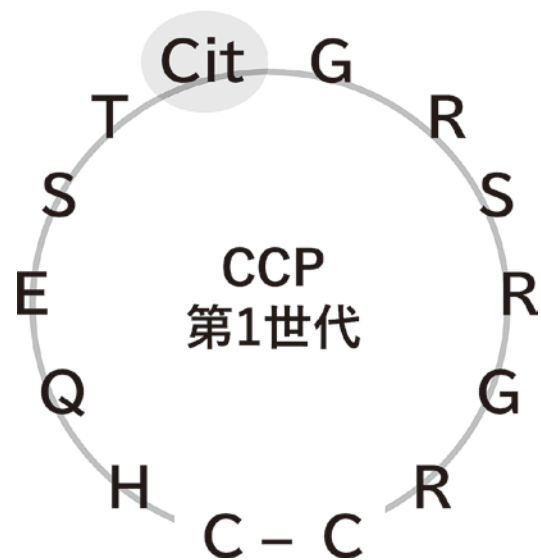


図2 第一世代抗 cyclic citrullinated peptide (CCP) 抗体測定に用いられた環状シトルリン化ペプチドのアミノ酸配列
第一世代抗 CCP 抗体は、シトルリン化フィラグリンのアミノ酸配列に基づくシトルリン化ペプチドを抗原とする ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) により測定された。ELISA の測定感度を上昇させるために、シトルリン化ペプチドは S-S 結合を用いて環状化されている。現在本邦で用いられているのは第 2 世代で、シトルリンを含む合成ペプチドライブラリーのスクリーニングにより選択されたシトルリン化ペプチドが用いられている (アミノ酸配列は非公開)

特異度を維持しつつ、感度を向上させた第2世代抗CCP抗体が開発され¹⁶⁾¹⁷⁾、2007年に本邦でも保険収載され、2010年にはAmerican College of Rheumatology (ACR)/European League against Rheumatism (EULAR)のRA分類基準(表1)に採用されている¹⁸⁾。

RA 診断における抗 CCP 抗体の意義

リウマトイド因子 (rheumatoid factor, RF) はRA診断における感度は比較的高いが、特異度は十分でなく、非特異的B細胞活性化 (polyclonal B cell activation) によっても産生されるため、Sjögren症候群などRA以外の膠原病や慢性肝疾患、感染症、加齢などでも陽性となる。一方、抗CCP抗体(第2世代)は特異度に優れ、海外の報告では感度70%、特異度95%と報告されている¹⁹⁾。本邦RA患者について抗CCP抗体、RF、matrix metalloproteinase (MMP)-3の感度と特異度についてリウマチ専門施設を中心とする多施設共同研究で解析し²⁰⁾、抗CCP抗体の感度・特異度は90%でともにRFより優れていることを報告した(図3)。この研究では、RA活動性が高い症例が多く含まれていたため、MMP-3の感度はある程度保たれていたが特異度は低く、MMP-3は活動性評価には有用であるがRA診断における有用性は低いことがわかる。なお、早期RAにおける抗CCP抗体の感度は約50%である²¹⁾。抗CCP抗体がRA発症後に陽転することは稀であり²²⁾、早期

RAの陽性率が全RAと比較して低いのは、早期RAを対象にした場合抗CCP抗体陰性の軽症RA患者の割合が増加することによる。

欧州リウマチ学会 (EULAR) はRAの関節破壊の予測因子として、抗リウマチ薬による治療後の中等度または高疾患活動性の持続、急性期反応物質高値、腫脹関節数高値、RF及び/または抗CCP抗体陽性(特に高値)、早期からの骨びらん、2種類以上の抗リウマチ薬による治療に対する効果不十分の6項目をRAの予後不良因子として挙げている⁶⁾。特に抗CCP抗体の関与は大きく、抗CCP抗体はRFよりも関節破壊と関連することが明らかにされている²³⁻²⁵⁾。さらに抗CCP抗体陽性のみならず、抗CCP抗体の抗体価が高いほどRAの関節破壊進行は早く予後不良である²³⁾²⁶⁾。ACR/EULARのRA分類基準においては、予後不良患者を早期に検出してMTXを中心とする治療をより早く開始できるようにするために高力価(基準値の3倍以上)の自己抗体に高いスコアが配分されている(表1)。

抗CCP抗体を産生するか否か及びその抗体価はHLA-DR遺伝子多型と環境要因により患者毎に規定され、抗CCP抗体陽性RAはshared epitope (SE)を有するHLA-DRB1遺伝子多型を有する個体に喫煙が作用して発症し、抗CCP抗体陰性RAは非HLA-DRB遺伝子を背景に感染症などを契機に軽症型のRAを発症する⁴⁾。従って、抗CCP抗体の抗体価のレベルはRA診断及び予後不良患者の選別に有

表1 2010年米国・欧州リウマチ学会 関節リウマチ分類基準(文献18を参考に作成)

カテゴリー		点数
罹患関節	1カ所の大関節	0
	2~10カ所の大関節	1
	1~3カ所の小関節	2
	4~10カ所の小関節	3
	>10カ所の関節(少なくとも1カ所小関節を含む)	5
自己抗体	自己抗体(リウマトイド因子・抗CCP抗体)陰性	0
	少なくとも一方が低力価	2
	少なくとも一方が高力価(基準値上限の3倍)	3
炎症反応	CRPと赤沈のいずれも異常なし	0
	CRPと赤沈のいずれかが異常	1
持続期間	6週間未満	0
	6週間以上	1

少なくとも1カ所の関節に腫脹(滑膜炎)を認めること
 関節炎の原因が関節リウマチ以外の疾患で説明できないこと
 10点中6点以上で関節リウマチと分類する

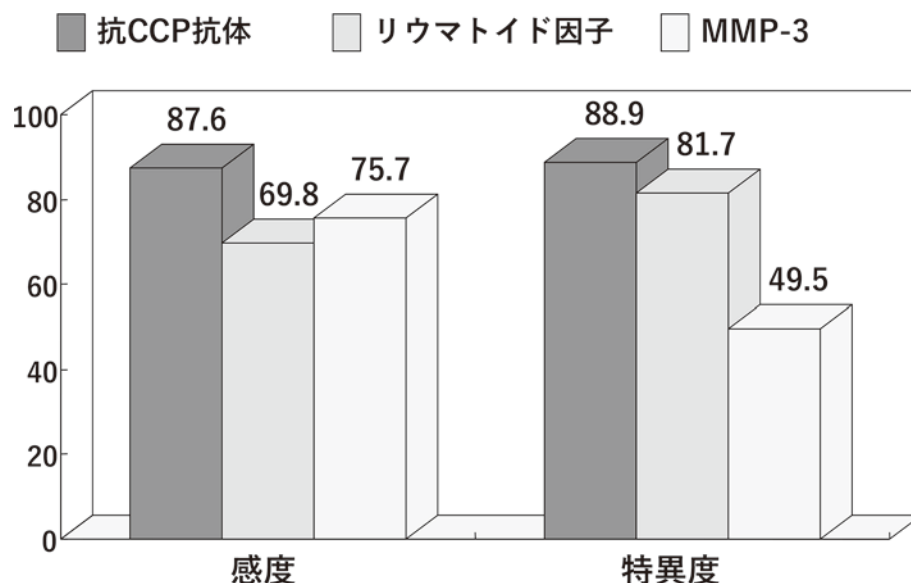


図3 抗CCP抗体、リウマトイド因子、matrix metalloproteinase (MMP)-3の関節リウマチ(RA)診断性能の比較
抗CCP抗体、リウマトイド因子、MMP-3の本邦RAの感度と特異度についてリウマチ専門施設を中心とする多施設共同研究で解析した(20)。解析対象は罹病期間の長い症例を含むRA 549例、RA以外のリウマチ性疾患208例で、図中に各項目の感度・特異度を示した。

用であるが疾患活動性とは相関せず、CRPとRAの活動性マーカーであるMMP-3との相関係数は0.58-0.61であるが、抗CCP抗体との相関係数は0.25にすぎない²⁰⁾。また、抗CCP抗体価は治療により低下するがその変動は小さい。Kastbomらの242例の早期RA患者を3年間加療し前後で抗CCP抗体を解析した報告でも抗体価のレベルはほぼ患者毎に決まっており、経過中の抗CCP抗体の陽転化や治療による陰性化は殆ど認められていない²²⁾。T細胞選択的共刺激調節剤であるアバタセプトや抗CD20抗体のリツキシマブはT細胞やB細胞に直接作用する薬剤であり投与後に抗体価は低下するが、総じて臨床的に抗CCP抗体価を経時的にフォローする意義は乏しく、抗CCP抗体はRA活動性の臨床的モニタリングには用いられない。

その他の臨床的意義として、抗CCP抗体は男性、高齢、喫煙、リウマチ因子とともに間質性肺炎合併の危険因子として同定されている²⁷⁾。また、抗CCP抗体陽性RAでは獲得免疫系に作用するアバタセプトとリツキシマブの有効率が高いことが報告されている²⁸⁾。

シトルリン化自己抗原

第2世代抗CCP抗体測定に用いられている抗原は化学合成ランダムペプチドライブラリーのスクリーニングから同定されたものであり、生体に存在

する蛋白質ではないことから、抗CCP抗体が認識する生体内のシトルリン化自己抗原の探索が行われてきた。最初にRA滑膜から同定されたシトルリン化ペプチドはシトルリン化フィブリノゲンである²⁹⁾。シトルリン化フィブリノゲンをHLA-DR4トランスジェニックマウスに免疫することにより関節炎が惹起されること³⁰⁾、および抗シトルリン化フィブリノゲン抗体は抗II型コラーゲン抗体誘導マウス関節炎を増悪することから³¹⁾、シトルリン化フィブリノゲンがRAの自己抗原として注目された。その後、RA滑膜からはシトルリン化ビメンチン³²⁾やシトルリン化フィブロネクチン³³⁾などが同定されている。関節液に含まれるシトルリン化ペプチドとしてはフィブリノゲン³⁴⁾、ビメンチン³⁵⁾、フィブロネクチン¹⁴⁻¹⁶⁾、 α -エノラーゼ³⁶⁾、cellular fibronectin³⁷⁾、I型/II型コラーゲン³⁸⁾、エクソソーム関連ペプチド³⁹⁾などが報告されている。これらのシトルリン化ペプチドが樹状細胞やマクロファージなどの抗原提示細胞に貪食された場合、断片化されたシトルリン化ペプチドはアルギニン(非シトルリン化)ペプチドよりもSE配列を有するHLA-DR分子に強固に結合する⁴⁰⁾。その結果、T細胞がより強く活性化されて免疫学寛容が破綻すると考えられる。

RA発症前の免疫異常

一般に膠原病では発症前から自己抗体が陽性にな

ることが多く、関節リウマチも HLA-DR4 を有する個体に喫煙などの環境因子が作用して抗 CCP 抗体が産生され、さらに感染やストレス、関節への軽微な外傷機転などが作用して、発症に至ると考えられる。RA 発症前のいつ頃から抗 CCP 抗体が産生されるのかに関して、Nielen らは献血歴のある早期 RA 患者について献血時の保存血清を回収して自己抗体の測定を行い、抗 CCP 抗体は RA 発症からさかのぼり平均 4.5 年前、患者によっては、10 年以上前から検出されることを報告している。また、RA 発症が近づくにつれ T 細胞のヘルプを受けて抗 CCP 抗体は成熟し、抗体価上昇や親和性亢進⁴¹⁾⁴²⁾、B 細胞エピトープ（認識する抗原）拡大⁴³⁾、アイソタイプ多様化⁴⁴⁾、可変領域に付加される糖鎖の増加⁴⁵⁾⁴⁶⁾などを生じる。その後 RA を発症する頃には抗 CCP 抗体の変化は収束して定常状態となる。

RA 発症前の抗 CCP 抗体産生部位として、健常喫煙者の気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中のマクロファージにシトルリン化ペプチドが検出されること⁴⁷⁾、抗 CCP 抗体陽性早期 RA 患者の BALF 中の抗 CCP 抗体価 (IgG で補正) は血清よりも高値であり、気道生検でシトルリン化ペプチドが検出されることから⁴⁸⁾、呼吸器が注目されている。RA 発症後の抗 CCP 抗体は関節局所のリンパ濾胞で産生され、シトルリン化ペプチドと免疫複合体を形成することにより持続的滑膜炎を呈する⁴⁹⁾。さらに、PAD 阻害薬 (Cl-amidine) や PADI4 遺伝子ノックアウトによりマウスコラーゲン関節炎が半減することから⁵⁰⁾⁵¹⁾、シトルリン化ペプチド生成とその後の抗シトルリン化ペプチド抗体産生機転はリウマトイド滑膜炎の病態形成に寄与することが想定される。

RF や抗 CCP 抗体は RA 発症前から産生されるので、健康診断などで関節痛やこわばりが全く無い健康者で RF や抗 CCP 抗体陽性が見つかることがある。一般人口における抗 CCP 抗体の陽性率は 1~2% であり⁵²⁻⁵⁴⁾、van Zanten らは、抗 CCP 抗体陽性者を 3 年間経過観察したところ約 10% が RA を発症したと報告している⁵⁴⁾。RA 発症の後天的要因は喫煙、歯周病、肥満なので、健康診断で RF や抗 CCP 抗体陽性を指摘された受診者には、禁煙、定期的な歯科受診、適正な体重管理を勧めることが肝要である。

おわりに

抗 CCP 抗体産生は RA 発症に先行すること及びシトルリン化酵素の 1 つである PADI4 遺伝子多型は RA 発症と関連することから、抗 CCP 抗体産生はリウマトイド関節炎の結果ではなく、より上流の RA の病因・病態と直結する事象であると考えられる。シトルリン化ペプチドは翻訳後修飾により生成されるが、RA ではリシン残基のカルバミル化 (ホモシトルリン) やアセチル化など他の修飾ペプチドに対する自己抗体も産生されることが報告されている⁵⁵⁾。シトルリン化を中心とするこれらの修飾ペプチドの産生とその免疫寛容の破綻プロセスを包括的に解析することは RA の病因・病態形成の解明に寄与すると考えられ、今後の研究の進展が期待される。

文 献

- 1) Tanaka S, Tanaka Y, Ishiguro N, Yamanaka H, Takeuchi T: RANKL: A therapeutic target for bone destruction in rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol* **28**(1): 9-16, 2018
- 2) 宮坂信之: 免疫症候群 (第 2 版) —その他の免疫疾患を含めて—。日本臨床別冊 (免疫症候群 III): 1-4, 2016
- 3) Kato E, Sawada T, Tahara K, Hayashi H, Tago M, Mori H, et al: The age at onset of rheumatoid arthritis is increasing in Japan: a nationwide database study. *Int J Rheum Dis* **20**(7): 839-845, 2017
- 4) Okada Y, Eyre S, Suzuki A, Kochi Y, Yamamoto K: Genetics of rheumatoid arthritis: 2018 status. *Ann Rheum Dis* **78**(4): 446-453, 2019
- 5) Romão VC, Fonseca JE: Etiology and Risk Factors for Rheumatoid Arthritis: A State-of-the-Art Review. *Front Med (Lausanne)* **8**: 689698, 2021
- 6) Smolen JS, Landewé RBM, Bijlsma JWJ, Burmester GR, Dougados M, Kerschbaumer A, et al: EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2019 update. *Ann Rheum Dis* **79**(6): 685-699, 2020
- 7) Li P, Li M, Lindberg MR, Kennett MJ, Xiong N, Wang Y: PAD4 is essential for antibacterial innate immunity mediated by neutrophil extracellular traps. *J Exp Med* **207**(9): 1853-1862, 2010
- 8) 中島克彦: 造血多能性幹細胞におけるヒストンシトルリン化の役割 造血細胞における PADI4 の発見から。医学のあゆみ **255**(9): 877-882, 2015
- 9) 石神昭人: 老年医学の展望 シトルリン化分子と老年病。日本老年医学会雑誌 **51**(4): 314-320, 2014

- 10) Suzuki A, Yamada R, Chang X, Tokuhira S, Sawada T, Suzuki M, et al : Functional haplotypes of PADI4, encoding citrullinating enzyme peptidylarginine deiminase 4, are associated with rheumatoid arthritis. *Nat Genet* **34**(4) : 395-402, 2003
- 11) Ishigaki K, Kochi Y, Suzuki A, Tsuchida Y, Tsuchiya H, Sumitomo S, et al : Polygenic burdens on cell-specific pathways underlie the risk of rheumatoid arthritis. *Nat Genet* **49**(7) : 1120-1125, 2017
- 12) Sahlström P, Hansson M, Steen J, Amara K, Titcombe PJ, Forsström B, et al : Different Hierarchies of Anti-Modified Protein Autoantibody Reactivities in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheumatol* **72**(10) : 1643-1657, 2020
- 13) Nienhuis RL, Mandema E : A new serum factor in patients with rheumatoid arthritis ; the antiperinuclear factor. *Ann Rheum Dis* **23**(4) : 302-305, 1964
- 14) Young BJ, Mallya RK, Leslie RD, Clark CJ, Hamblin TJ : Anti-keratin antibodies in rheumatoid arthritis. *Br Med J* **2**(6182) : 97-99, 1979
- 15) Schellekens GA, de Jong BA, van den Hoogen FH, van de Putte LB, van Venrooij WJ : Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* **101**(1) : 273-281, 1998
- 16) Lee DM, Schur PH : Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* **62**(9) : 870-874, 2003
- 17) van Gaalen FA, Linn-Rasker SP, van Venrooij WJ, de Jong BA, Breedveld FC, Verweij CL, et al : Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis : a prospective cohort study. *Arthritis Rheum* **50**(3) : 709-715, 2004
- 18) Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, et al : 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria : An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis & Rheumatism* **62**(9) : 2569-2581, 2010
- 19) Nishimura K, Sugiyama D, Kogata Y, Tsuji G, Nakazawa T, Kawano S, et al : Meta-analysis : diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med* **146**(11) : 797-808, 2007
- 20) Suzuki K, Sawada T, Murakami A, Matsui T, Tohma S, Nakazono K, et al : High diagnostic performance of ELISA detection of antibodies to citrullinated antigens in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* **32**(4) : 197-204, 2003
- 21) van der Helm-van Mil AH, Verpoort KN, Breedveld FC, Toes RE, Huizinga TW : Antibodies to citrullinated proteins and differences in clinical progression of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* **7**(5) : R949-958, 2005
- 22) Kastbom A, Strandberg G, Lindroos A, Skogh T : Anti-CCP antibody test predicts the disease course during 3 years in early rheumatoid arthritis (the Swedish TIRA project). *Ann Rheum Dis* **63**(9) : 1085-1089, 2004
- 23) Syversen SW, Gaarder PI, Goll GL, Ødegård S, Haavardsholm EA, Mowinckel P, et al : High anti-cyclic citrullinated peptide levels and an algorithm of four variables predict radiographic progression in patients with rheumatoid arthritis : results from a 10-year longitudinal study. *Ann Rheum Dis* **67**(2) : 212-217, 2008
- 24) Hecht C, Englbrecht M, Rech J, Schmidt S, Araujo E, Engelke K, et al : Additive effect of anti-citrullinated protein antibodies and rheumatoid factor on bone erosions in patients with RA. *Ann Rheum Dis* **74**(12) : 2151-2156, 2015
- 25) van Steenbergen HW, Ajeganova S, Forslind K, Svensson B, van der Helm-van Mil AH : The effects of rheumatoid factor and anticitrullinated peptide antibodies on bone erosions in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* **74**(1) : e3, 2015
- 26) Saeki Y, Kudo-Tanaka E, Ohshima S, Matsushita M, Tsuji S, Maeda Y, et al : Baseline anti-citrullinated peptide antibody (ACPA) titers and serum interleukin-6 (IL-6) levels possibly predict progression of bone destruction in early stages of rheumatoid arthritis (ERA). *Rheumatol Int* **33**(2) : 451-456, 2013
- 27) Spagnolo P, Lee JS, Sverzellati N, Rossi G, Cottin V : The Lung in Rheumatoid Arthritis : Focus on Interstitial Lung Disease. *Arthritis Rheumatol* **70**(10) : 1544-1554, 2018
- 28) Courvoisier DS, Chatzidionysiou K, Mongin D, Lauper K, Mariette X, Morel J, et al : The impact of seropositivity on the effectiveness of biologic anti-rheumatic agents : results from a collaboration of 16 registries. *Rheumatology (Oxford)* **60**(2) : 820-828, 2021
- 29) Masson-Bessière C, Sebbag M, Girbal-Neuhauser E, Nogueira L, Vincent C, Senshu T, et al : The major synovial targets of the rheumatoid arthritis-specific antifilaggrin autoantibodies are deiminated forms of the alpha- and beta-chains of fibrin. *J Immunol* **166**(6) : 4177-4184, 2001
- 30) Hill JA, Bell DA, Brintnell W, Yue D, Wehrli B, Jevnikar AM, et al : Arthritis induced by posttranslationally modified (citrullinated) fibrinogen in DR4-IE transgenic mice. *J Exp Med* **205**(4) : 967-979, 2008
- 31) Kuhn KA, Kulik L, Tomooka B, Braschler KJ, Arend WP, Robinson WH, et al : Antibodies against citrullinated proteins enhance tissue injury in experimental autoimmune arthritis. *J Clin Invest* **116**(4) : 961-973, 2006
- 32) Tilleman K, Van Steendam K, Cantaert T, De Keyser F, Elewaut D, Deforce D : Synovial detection and

- autoantibody reactivity of processed citrullinated isoforms of vimentin in inflammatory arthritides. *Rheumatology (Oxford)* **47**(5) : 597-604, 2008
- 33) Chang X, Yamada R, Suzuki A, Kochi Y, Sawada T, Yamamoto K : Citrullination of fibronectin in rheumatoid arthritis synovial tissue. *Rheumatology (Oxford)* **44**(11) : 1374-1382, 2005
- 34) Takizawa Y, Suzuki A, Sawada T, Ohsaka M, Inoue T, Yamada R, et al : Citrullinated fibrinogen detected as a soluble citrullinated autoantigen in rheumatoid arthritis synovial fluids. *Ann Rheum Dis* **65**(8) : 1013-1020, 2006
- 35) Bang H, Egerer K, Gauliard A, Lühke K, Rudolph PE, Fredenhagen G, et al : Mutation and citrullination modifies vimentin to a novel autoantigen for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* **56**(8) : 2503-2511, 2007
- 36) Kinloch A, Tatzer V, Wait R, Peston D, Lundberg K, Donatien P, et al : Identification of citrullinated alpha-enolase as a candidate autoantigen in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* **7**(6) : R1421-1429, 2005
- 37) Kimura E, Kanzaki T, Tahara K, Hayashi H, Hashimoto S, Suzuki A, et al : Identification of citrullinated cellular fibronectin in synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol* **24**(5) : 766-769, 2014
- 38) Uysal H, Bockermann R, Nandakumar KS, Sehnert B, Bajtner E, Engström A, et al : Structure and pathogenicity of antibodies specific for citrullinated collagen type II in experimental arthritis. *J Exp Med* **206**(2) : 449-462, 2009
- 39) Skriner K, Adolph K, Jungblut PR, Burmester GR : Association of citrullinated proteins with synovial exosomes. *Arthritis Rheum* **54**(12) : 3809-3814, 2006
- 40) Hill JA, Southwood S, Sette A, Jevnikar AM, Bell DA, Cairns E : Cutting edge : the conversion of arginine to citrulline allows for a high-affinity peptide interaction with the rheumatoid arthritis-associated HLA-DRB1*0401 MHC class II molecule. *J Immunol* **171**(2) : 538-541, 2003
- 41) Rantapää-Dahlqvist S, de Jong BA, Berglin E, Hallmans G, Wadell G, Stenlund H, et al : Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* **48**(10) : 2741-2749, 2003
- 42) Suwannalai P, van de Stadt LA, Radner H, Steiner G, El-Gabalawy HS, Zijde CM, et al : Avidity maturation of anti-citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* **64**(5) : 1323-1328, 2012
- 43) van de Stadt LA, van der Horst AR, de Koning MH, Bos WH, Wolbink GJ, van de Stadt RJ, et al : The extent of the anti-citrullinated protein antibody repertoire is associated with arthritis development in patients with seropositive arthralgia. *Ann Rheum Dis* **70**(1) : 128-133, 2011
- 44) Kokkonen H, Mullazehi M, Berglin E, Hallmans G, Wadell G, Rönnelid J, et al : Antibodies of IgG, IgA and IgM isotypes against cyclic citrullinated peptide precede the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* **13**(1) : R13, 2011
- 45) Hafkenschied L, de Moel E, Smolik I, Tanner S, Meng X, Jansen BC, et al : N-Linked Glycans in the Variable Domain of IgG Anti-Citrullinated Protein Antibodies Predict the Development of Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheumatol* **71**(10) : 1626-1633, 2019
- 46) Kissel T, van Schie KA, Hafkenschied L, Lundquist A, Kokkonen H, Wuhler M, et al : On the presence of HLA-SE alleles and ACPA-IgG variable domain glycosylation in the phase preceding the development of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* **78**(12) : 1616-1620, 2019
- 47) Makrygiannakis D, Hermansson M, Ulfgren AK, Nicholas AP, Zendman AJ, Eklund A, et al : Smoking increases peptidylarginine deiminase 2 enzyme expression in human lungs and increases citrullination in BAL cells. *Ann Rheum Dis* **67**(10) : 1488-1492, 2008
- 48) Reynisdottir G, Karimi R, Joshua V, Olsen H, Hensvold AH, Harju A, et al : Structural changes and antibody enrichment in the lungs are early features of anti-citrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol* **66**(1) : 31-39, 2014
- 49) van Venrooij WJ, Pruijn GJ : An important step towards completing the rheumatoid arthritis cycle. *Arthritis Res Ther* **10**(5) : 117, 2008
- 50) Willis VC, Gizinski AM, Banda NK, Causey CP, Knuckley B, Cordova KN, et al : N- α -benzoyl-N5-(2-chloro-1-iminoethyl)-L-ornithine amide, a protein arginine deiminase inhibitor, reduces the severity of murine collagen-induced arthritis. *J Immunol* **186**(7) : 4396-4404, 2011
- 51) Suzuki A, Kochi Y, Shoda H, Seri Y, Fujio K, Sawada T, et al : Decreased severity of experimental autoimmune arthritis in peptidylarginine deiminase type 4 knockout mice. *BMC Musculoskelet Disord* **17** : 205, 2016
- 52) Terao C, Ohmura K, Ikari K, Kawaguchi T, Takahashi M, Setoh K, et al : Effects of smoking and shared epitope on the production of anti-citrullinated peptide antibody in a Japanese adult population. *Arthritis Care Res (Hoboken)* **66**(12) : 1818-1827, 2014
- 53) Maijer KI, Gerlag DM, Tak PP : Prevalence of Anti-Citrullinated Protein Antibodies and IgM Rheumatoid Factor in First-Degree Relatives of Dutch Rheumatoid Arthritis Patients. *Arthritis Rheumatol* **67**

- (12) : 3324-3326, 2015
- 54) van Zanten A, Arends S, Roozendaal C, Limburg PC, Maas F, Trouw LA, et al : Presence of anticitrullinated protein antibodies in a large population-based cohort from the Netherlands. *Ann Rheum Dis* **76** (7) : 1184-1190, 2017
- 55) Scherer HU, van der Woude D, Toes REM : From risk to chronicity : evolution of autoreactive B cell and antibody responses in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol* **18**(7) : 371-383, 2022