

# 免疫異常からみるプレクリニカルステージの RA

近藤リウマチ・整形外科クリニック

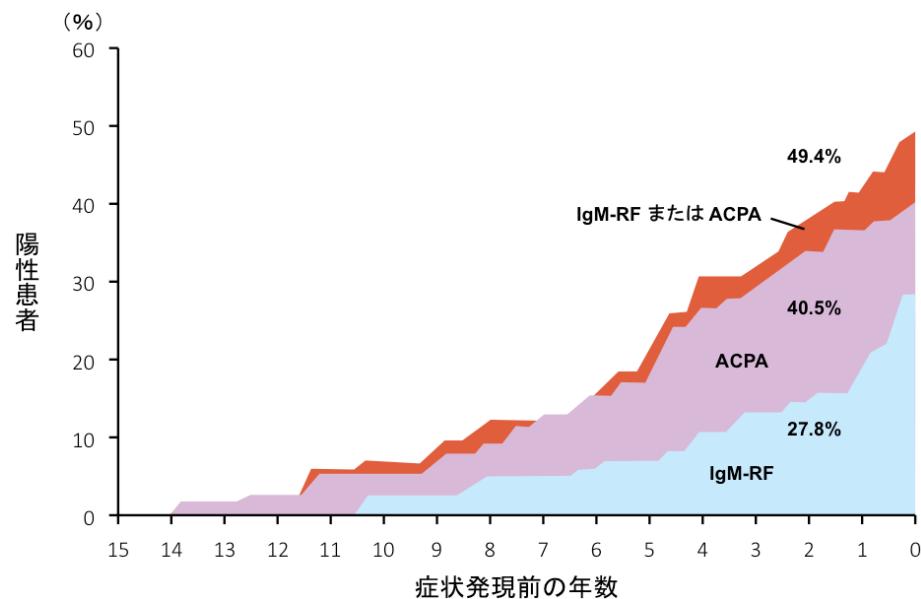
山田 久方

(2018年 第19回博多リウマチセミナー)

## 1. はじめに

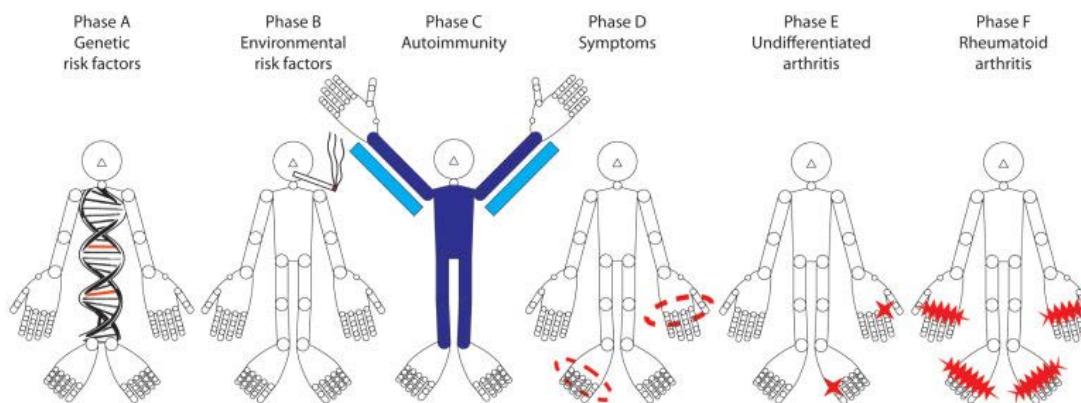
RA のプレクリニカルステージ (Pre-RA) が注目されるようになったきっかけ

- スウェーデン<sup>1)</sup>、オランダ<sup>2)</sup>からの報告
- RA 発症前の保存血清から ACPA (後述)、RF が検出された



文献 2 より改変

## Pre-RA の概要



文献 3 より

## 2. Pre-RA とはどんな状態？

### 1) EULAR による Pre-RA の定義<sup>4)</sup>

RA 発症までの各段階

- (a) RA の遺伝的危険因子を有する
- (b) RA の環境的危険因子を有する
- (c) RA 関連の全身性自己免疫反応を認める
- (d) 何らかの症状を呈するが臨床的に明らかな関節炎は認めない
- (e) 分類不能の関節炎 (Undifferentiated Arthritis: UA) を発症
- (f) RA の発症

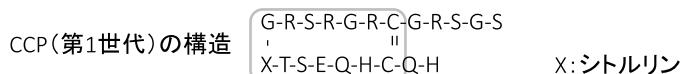
使用法

- 関節炎とは臨床的に明らかな軟部組織の腫脹や水腫を認める状態
- (a)から(e)を組み合わせて表現 (例 : a+b+d)。必ずしも全段階を経由する必要なし
- 「a+b+d を有する Pre-RA」などのように表す。ただし、あくまでも RA 発症後に、レトロスペクティブに用いる (全員が RA を発症する訳ではないため)

### 2) Pre-RA における抗シトルリン化タンパク抗体 (ACPA) の特徴

ACPA とは？

- アミノ酸の一種シトルリンを含んだ種々のタンパク質に対する抗体の総称  
例：抗シトルリン化フィブリノゲン抗体、抗シトルリン化ビメンチン抗体など
- 抗 CCP 抗体は、シトルリンを含んだ人工合成ペプチドである CCP に対する抗体。そのため厳密には自己抗体とは言えないが、検出感度が高いため汎用される

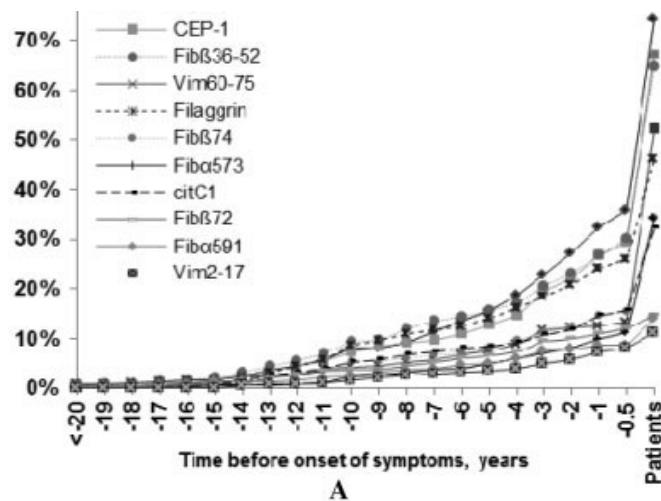


- RA 発症前からの出現が知られていた、抗ケラチン抗体 (AKA) や抗核周囲因子 (APF) は抗シトルリン化フィラグリン抗体と判明<sup>5)</sup>
- RA 関連の遺伝・環境因子の多くが ACPA 產生に関係<sup>6)</sup>
  - MHC クラス II などの遺伝子：シトルリン化タンパクに対する免疫応答に関係
  - 喫煙、歯周病などの環境因子：シトルリン化タンパクの產生に関係

RA 発症前に観察される ACPA の変化

- 抗体価の上昇<sup>1,2,7,8)</sup>
- 抗原への結合親和性の上昇<sup>9)</sup>
- アイソタイプ数の増加<sup>10,11)</sup>

- 反応する抗原数の増加<sup>7,8,12,13)</sup>



文献 13 より

- Fc 部の糖鎖修飾の変化<sup>14)</sup>

#### RA 発症後の ACPA に変化は？

- 反応する抗原数は発症後は変化しない<sup>8,12)</sup>
- 発症後 12w 週以前と 12 週以降の未治療 RA で比較（治療の影響を除外）<sup>15)</sup>  
反応抗原数やアイソタイプ、抗体価にも差を認めない

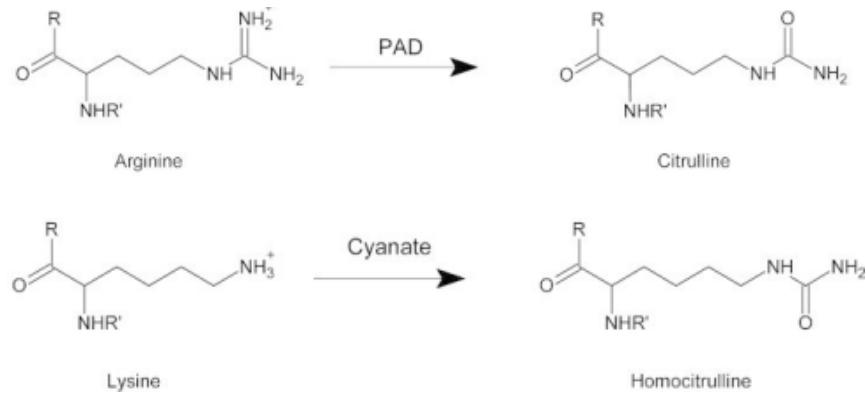
#### 3) Pre-RA 期に観察される、ACPA 以外の免疫異常

##### リウマチ因子 (RF)

- RF も RA 発症前から検出（むしろ ACPA より古くから知られていた<sup>16)</sup>）
- RF と ACPA どちらが先に出現するかは報告により異なる<sup>1,2)</sup>

##### 抗カルバミル化（ホモシトルリン化）タンパク抗体：抗 CarP 抗体

- 構造的にはシトルリンに似るが、生成過程は無関係



- ACPA 同様に発症前から出現する。抗 CarP 抗体陽性者の多くは ACPA も陽性<sup>17)</sup>

#### 抗 PAD4 抗体

- PAD4 はアルギニンをシトルリンに変化させる酵素

- 発症前 RA の 18%で検出されたが、約 7 割で CCP が先行<sup>18)</sup>

※ 他の膠原病でも発症前から自己抗体が検出（例：SLE<sup>19)</sup>）

#### 炎症マーカー、サイトカインなど<sup>20-25)</sup>

例) 米軍の RA 発症前保存血清の解析<sup>24)</sup>

発症前の RA でも多くのサイトカインなどが健常者より上昇

IL-1a, IL-1b, IL-6, IL-10, IL-12, IL-15, FGF2, flt3L, TNF-a, IP-10, GM-CSF,  
CRP

4) Pre-RA 期（抗体陽性で関節痛のみ）の関節に変化は？

#### 滑膜生検組織<sup>26,27)</sup>

- 組織所見（膝関節）に自己抗体陽性と陰性の健常者で差なし

- 経過観察後の関節炎発症(27%)と組織所見の間にも相関なし

#### MRI<sup>26-28)</sup>

- 膝関節では自己抗体陽性でも健常人の間に違いは認めず

- 手の MRI の解析では臨床的には関節痛のみでも炎症所見あり

#### 関節エコー<sup>29)</sup>

- エコーでの異常所見は関節炎発症（23%）と相関

#### PET<sup>30)</sup>

- 手指、手関節で取り込みが亢進

#### 鼠径リンパ節の生検組織<sup>31)</sup>

- 健常人に比べ B 細胞と活性化 CD8T 細胞が増加

### 3. Pre-RA から RA への移行は予測できる？

1) 一般人口での自己抗体陽性率は？

#### 血縁者、主に第一度近親者（first degree relatives: FDR）での解析

カナダの 北米先住民での調査<sup>32)</sup> (Cree 族、Ojibway 族は RA 罹患率 3 %)

- 195 名の血縁者（FDR 以外も含む）を対象

- 抗 CCP 抗体は UA で 38%，無症状でも 19%が陽性。非血縁者でも 8.8%陽性

カナダの 北米先住民での調査<sup>33)</sup>

- 273 名の FDR 中、9%が抗 CCP 抗体陽性、34%が RF 陽性。200 名の対照群は、それぞれ 4%と 9%
- FDR では血清中サイトカイン、hsCRP が上昇

アメリカ合衆国複数州での調査<sup>34)</sup>

- 1058 名の FDR 中、1.7%が抗 CCP 抗体、4.7%が IgM RF 陽性)
- FDR の中で比較すると、自己抗体陽性者で血清中サイトカインが上昇<sup>35)</sup>

オランダでの調査<sup>36)</sup>

- 577 名の FDR 中、1.9% が抗 CCP 抗体、6.6%が IgM RF 陽性（共陽性 1.1%）

ブラジルでの調査<sup>37)</sup>

- 血縁者 200 人中、5.5%が抗 CCP 抗体、8%が RF 陽性。非血縁者 100 人中では、それぞれ 1%と 6%

### 一般住民での解析

トルコでの調査<sup>38)</sup>

- 941 人中 1%が抗 CCP 抗体陽性、2.8%が RF 陽性

日本での調査<sup>39)</sup>

- 9575 人中 1.7%が抗 CCP 抗体陽性、6.4%が RF 陽性
- 喫煙、SE (MHC クラス II) は相関なし

スウェーデンでの双生児の調査<sup>40)</sup>

- 12500 人中 2.8%が抗 CCP 抗体陽性（1%が RA）
- SE は ACPA+RA+ とは強く相関。ACPA+RA- とはあまり相関せず

オランダでの調査<sup>41)</sup>

- 40136 名中 1%が抗 CCP 抗体陽性（0.22%が RA）

2) Pre-RA から RA への移行率は？どういう場合に移行しやすい？

初期の nested case-control study (文献 1,2)からの算出<sup>3)</sup>

- ACPA 陽性者は 5 年以内の RA 発症率 5.3%、生涯 RA 発症率 16%
- IgM RF 陽性者ではそれぞれ 1.5%と 4%

では、実際の追跡研究では？

### UA の状態から

オランダでの調査<sup>42)</sup>

- UA570 名中、約 1/3 が 1 年以内に RA 発症
- Leiden clinical prediction rule (CPR) - 危険因子をスコア化し発症を予測

1. What is the age in years? Multiply by 0.02.	<hr/>
2. What is the sex?	<hr/>
In case female:	1 point
3. What is the distribution of involved joints?	<hr/>
In case small joints hands/feet:	0.5 point
In case symmetric:	0.5 point
In case upper extremities:	1 point
In case upper and lower extremities:	1.5 points
4. What is the score for morning stiffness on a 100-mm VAS?	<hr/>
In case 26-90 mm:	1 point
In case >90 mm:	2 points
5. What is the number of tender joints?	<hr/>
In case 4-10:	0.5 point
In case 11 or higher:	1 point
6. What is the number of swollen joints?	<hr/>
In case 4-10:	0.5 point
In case 11 or more:	1 point
7. What is the C-reactive protein level?	<hr/>
In case 5-50 mg/liter:	0.5 point
In case 51 mg/liter or higher:	1.5 points
8. Is the patient rheumatoid factor positive?	<hr/>
If yes:	1 point
9. Are the anti-CCP antibodies positive?	<hr/>
If yes:	2 points
Total score	<hr/>

イタリアでの調査<sup>43)</sup>

- UA192 名中、38%が 2 年以内に RA 発症。抗 CCP 抗体陽性が危険因子
- CCP 抗体価と発症までの期間にも相関あり

#### 関節痛のみを呈する状態から

オランダでの調査<sup>44)</sup>

- 関節痛のみを呈する 147 人 (ACPA+:50 人、RF+:52 人、ACPA+RF+:45 人)
- 平均 28 ヶ月の観察期間で 20%が関節炎発症し、その 90%は ACPA+
- (ACPA+の中では 27%が関節炎発症)

オランダでの調査<sup>45)</sup>

- 抗 CCP 抗体を含む ACPA and/or RF 陽性で関節痛のみを呈する 244 人
- 平均 11 ヶ月の観察期間で 28% が関節炎発症
- 関節炎発症と関係する特定のシトルリン化ペプチドはないが、反応ペプチド数が多い場合や、抗体価が高い場合が高リスク
- 脂質代謝異常、肥満、喫煙も高リスク。飲酒はむしろリスクを低下?<sup>46-48)</sup>

メキシコでの調査<sup>49)</sup>

- 無症状の RA 患者血縁者 819 名 (1.5%が抗 CCP 抗体のみ、2%が RF のみ、1.3% は共に陽性)
- 全体では 2.1%が 5 年以内に RA 発症 (抗 CCP 抗体陽性者では約 6 割が発症)。
- 母親が RA の場合はリスクが 3 倍

スウェーデンでの 12599 人の双生児の追跡調査の続報<sup>50)</sup>

- 平均 3 年の観察期間で抗 CCP 抗体陽性の 247 人中、21 名が RA 発症

オランダでの調査<sup>51)</sup>

- ACPA/RF 陽性で関節痛のみの 374 人。平均 12 ヶ月で 35% が関節炎発症  
(危険予測因子)

①症状出現から 1 年以内、②間欠的な症状、③上下肢の関節痛、

④朝のこわばり 1 時間以上、⑤患者申告による関節腫脹

イギリスでの調査<sup>52)</sup>

- 抗 CCP 抗体陽性で非特異的筋骨格症状 (MSK) を呈する 100 名

- 平均 8 ヶ月で 50% が関節炎発症

(危険予測因子)

①手指、足趾の関節圧痛、②30 分以上の朝のこわばり、③自己抗体高値 (>検出限界の 3 倍)、④USPD 陽性

イギリスでの調査<sup>53)</sup>

- MSK 症状を呈する 2088 名

- 抗 CCP 抗体陽性が 2.8%、その 47% が 1 年以内に関節炎 (RA は 42%) 発症

- 抗 CCP 抗体陰性群では 1.3% が関節炎 (RA は 0.8%) 発症。

その他

末梢血 T 細胞、B 細胞と RA 移行の関係を調べた研究などもある<sup>54,55)</sup>

#### EULAR による RA への移行が疑われる関節痛<sup>56)</sup>

以下の 7 つのパラメータを評価

- ①症状出現から 1 年以内
- ②MCP 関節の症状
- ③朝のこわばり 1 時間以上
- ④早朝に強い症状
- ⑤FDR に RA 患者が存在
- ⑥拳を握るのが困難
- ⑦MCP の squeeze test 陽性

3 項目以上で感度 90%、特異度 74%。4 項目以上では各々 71%、94%。

#### 4. PreRA から RA への移行は予防できる？

1) UA の状態から

### PSL (STIVEA trial) <sup>57)</sup>

- 手を含む 2 カ所以上の関節炎を発症後 4-10 週の 111 例を対象
- mPSL 80mg/週を 3 回筋注
- 1 年後の RA 診断率は PSL 群 49%，対照群 60% で有意差を認めず

### PSL (SAVE trial) <sup>58)</sup>

- 1 カ所以上の関節炎を発症後 16 週以内の 145 例を対象
- mPSL 120mg を 1 回筋注
- 1 年後の RA の診断率は PSL 群 69 名、対照群 76 名と有意差無し

### MTX (PROMPT study)<sup>59)</sup>

- 発症後 2 年以内の 1958 年 ARA 分類基準 probable RA に相当する 110 例を対象
- MTX15-30mg/週を 1 年間投与
- 5 年後の RA 診断率（1987 年 ACR）に有意差無し（MTX 群で少し遅延）
- 対照群でも約 1/4 が治療が不要な状態のまま
- ハイリスク群のみでの再解析<sup>60)</sup>では RA 診断率は MTX 群 55%、対照群が 100% と差を認めた（ただし各群 11 例）

### アバタセプト (ADJUST trial)<sup>61)</sup>

- 抗 CCP 抗体陽性で 2 カ所以上の関節炎を認めるが、1987ACR 基準は満たさない 50 例を対象
- 6 ヶ月間アバタセプトを投与
- 1 年後の RA 診断率にアバタセプトと対照群に有意差無し

注) これらの研究では投与開始時、既に多くの症例が 2010 診断基準は満たす。

2) 血清陽性だが臨床的に関節炎は認めない状態から

### PSL<sup>62)</sup>

- RF、ACPA 陽性だが関節痛のみを呈する 83 例を対象
- デキサメタゾン 100mg を開始時と 6 週後の 2 回筋注
- 抗体価上昇は Dex 群で抑制されたが、関節炎発症率や RA 診断率には有意差無し

### リツキシマブ、アバタセプト

- 現在進行中の研究
- リツキシマブは学会抄録（Gerlag D, EULAR abstract, 2016）では、関節炎発症率に差を認めなかったと報告

## 文献

- 1) Rantapää-Dahlqvist S, de Jong BA, Berglin E, Hallmans G, Wadell G, Stenlund H, Sundin U, van Venrooij WJ. Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2003 Oct;48(10):2741-9
- 2) Nielen MM, van Schaardenburg D, Reesink HW, van de Stadt RJ, van der Horst-Bruinsma IE, de Koning MH, Habibuw MR, Vandebroucke JP, Dijkmans BA. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum.* 2004 Feb;50(2):380-6.
- 3) van Steenbergen HW, Huizinga TW, van der Helm-van Mil AH. The preclinical phase of rheumatoid arthritis: what is acknowledged and what needs to be assessed? *Arthritis Rheum.* 2013 Sep;65(9):2219-32.
- 4) Gerlag DM, Raza K, van Baarsen LG, Brouwer E, Buckley CD, Burmester GR, Gabay C, Catrina AI, Cope AP, Cornelis F, Dahlqvist SR, Emery P, Eyre S, Finckh A, Gay S, Hazes JM, van der Helm-van Mil A, Huizinga TW, Klareskog L, Kvien TK, Lewis C, Machold KP, Rönnelid J, van Schaardenburg D, Schett G, Smolen JS, Thomas S, Worthington J, Tak PP. EULAR recommendations for terminology and research in individuals at risk of rheumatoid arthritis: report from the Study Group for Risk Factors for Rheumatoid Arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2012 May;71(5):638-41.
- 5) 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.* 1998 Jan 1;101(1):273-81.
- 6) Catrina AI, Deane KD, Scher JU. Gene, environment, microbiome and mucosal immune tolerance in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2016 Mar;55(3):391-402.
- 7) van de Stadt LA, de Koning MH, van de Stadt RJ, Wolbink G, Dijkmans BA, Hamann D, van Schaardenburg D. Development of the anti-citrullinated protein antibody repertoire prior to the onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2011 Nov;63(11):3226-33.
- 8) Sokolove J, Bromberg R, Deane KD, Lahey LJ, Derber LA, Chandra PE, Edison JD, Gilliland WR, Tibshirani RJ, Norris JM, Holers VM, Robinson WH. Autoantibody epitope spreading in the pre-clinical phase predicts progression to rheumatoid arthritis. *PLoS One.* 2012;7(5):e35296.
- 9) Suwannalai P, van de Stadt LA, Radner H, Steiner G, El-Gabalawy HS, Zijde CM, van Tol MJ, van Schaardenburg D, Huizinga TW, Toes RE, Trouw LA. Avidity maturation of anti-citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2012 May;64(5):1323-8.
- 10) Kokkonen H, Mullazehi M, Berglin E, Hallmans G, Wadell G, Rönnelid J, Rantapää-Dahlqvist S.

Antibodies of IgG, IgA and IgM isotypes against cyclic citrullinated peptide precede the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2011 Feb;13(1):R13.

- 11) Bos WH, van de Stadt LA, Sohrabian A, Rönnelid J, van Schaardenburg D. Development of anti-citrullinated protein antibody and rheumatoid factor isotypes prior to the onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2014;16(2):405.
- 12) van der Woude D, Rantapää-Dahlqvist S, Ioan-Facsinay A, Onnekink C, Schwarte CM, Verpoort KN, Drijfhout JW, Huizinga TW, Toes RE, Pruijn GJ. Epitope spreading of the anti-citrullinated protein antibody response occurs before disease onset and is associated with the disease course of early arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2010 Aug;69(8):1554-61.
- 13) Brink M, Hansson M, Mathsson L, Jakobsson PJ, Holmdahl R, Hallmans G, Stenlund H, Rönnelid J, Klareskog L, Rantapää-Dahlqvist S. Multiplex analyses of antibodies against citrullinated peptides in individuals prior to development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2013 Apr;65(4):899-910
- 14) Rombouts Y, Ewing E, van de Stadt LA, Selman MH, Trouw LA, Deelder AM, Huizinga TW, Wuhrer M, van Schaardenburg D, Toes RE, Scherer HU. Anti-citrullinated protein antibodies acquire a pro-inflammatory Fc glycosylation phenotype prior to the onset of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2015 Jan;74(1):234-41.
- 15) Willemze A, van der Linden MP, le Cessie S, Trouw LA, Toes RE, Huizinga TW, van der Helm-van Mil AH. The window of opportunity in ACPA-positive rheumatoid arthritis is not explained by ACPA characteristics. *Ann Rheum Dis.* 2011 Sep;70(9):1697-8.
- 16) Aho K, Palosuo T, Raunio V, Puska P, Aromaa A, Salonen JT. When does rheumatoid disease start? *Arthritis Rheum.* 1985 May;28(5):485-9.
- 17) Shi J, van de Stadt LA, Levarht EW, Huizinga TW, Hamann D, van Schaardenburg D, Toes RE, Trouw LA. Anti-carbamylated protein (anti-CarP) antibodies precede the onset of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2014 Apr;73(4):780-3.
- 18) Kolfenbach JR, Deane KD, Derber LA, O'Donnell CI, Gilliland WR, Edison JD, Rosen A, Darrah E, Norris JM, Holers VM. Autoimmunity to peptidyl arginine deiminase type 4 precedes clinical onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2010 Sep;62(9):2633-9.
- 19) Arbuckle MR, McClain MT, Rubertone MV, Scofield RH, Dennis GJ, James JA, Harley JB. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2003 Oct 16;349(16):1526-33
- 20) Nielen MM, van Schaardenburg D, Reesink HW, Twisk JW, van de Stadt RJ, van der Horst-Bruinsma IE, de Gast T, Habibuw MR, Vandebroucke JP, Dijkmans BA. Increased levels of C-reactive protein in serum from blood donors before the onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2004

Aug;50(8):2423-7.

- 21) Rantapää-Dahlqvist S, Boman K, Tarkowski A, Hallmans G. Up regulation of monocyte chemoattractant protein-1 expression in anti-citrulline antibody and immunoglobulin M rheumatoid factor positive subjects precedes onset of inflammatory response and development of overt rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2007 Jan;66(1):121-3.
- 22) Karlson EW, Chibnik LB, Tworoger SS, Lee IM, Buring JE, Shadick NA, Manson JE, Costenbader KH. Biomarkers of inflammation and development of rheumatoid arthritis in women from two prospective cohort studies. *Arthritis Rheum.* 2009 Mar;60(3):641-52.
- 23) Jørgensen KT, Wiik A, Pedersen M, Hedegaard CJ, Vestergaard BF, Gislevoss RE, Kvien TK, Wohlfahrt J, Bendtzen K, Frisch M. Cytokines, autoantibodies and viral antibodies in premorbid and postdiagnostic sera from patients with rheumatoid arthritis: case-control study nested in a cohort of Norwegian blood donors. *Ann Rheum Dis.* 2008 Jun;67(6):860-6.
- 24) Deane KD, O'Donnell CI, Hueber W, Majka DS, Lazar AA, Derber LA, Gilliland WR, Edison JD, Norris JM, Robinson WH, Holers VM. The number of elevated cytokines and chemokines in preclinical seropositive rheumatoid arthritis predicts time to diagnosis in an age-dependent manner. *Arthritis Rheum.* 2010 Nov;62(11):3161-72.
- 25) Kokkonen H, Söderström I, Rocklöv J, Hallmans G, Lejon K, Rantapää Dahlqvist S. Up-regulation of cytokines and chemokines predates the onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2010 Feb;62(2):383-91.
- 26) van de Sande MG, de Hair MJ, van der Leij C, Klarenbeek PL, Bos WH, Smith MD, Maas M, de Vries N, van Schaardenburg D, Dijkmans BA, Gerlag DM, Tak PP. Different stages of rheumatoid arthritis: features of the synovium in the preclinical phase. *Ann Rheum Dis.* 2011 May;70(5):772-7.
- 27) de Hair MJ, van de Sande MG, Ramwadhoebe TH, Hansson M, Landewé R, van der Leij C, Maas M, Serre G, van Schaardenburg D, Klareskog L, Gerlag DM, van Baarsen LG, Tak PP. Features of the synovium of individuals at risk of developing rheumatoid arthritis: implications for understanding preclinical rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol.* 2014 Mar;66(3):513-22.
- 28) Krabben A, Stomp W, van der Heijde DM, van Nies JA, Bloem JL, Huizinga TW, Reijnierse M, van der Helm-van Mil AH. MRI of hand and foot joints of patients with anticitrullinated peptide antibody positive arthralgia without clinical arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2013 Sep 1;72(9):1540-4.
- 29) van de Stadt LA, Bos WH, Meursinge Reynders M, Wieringa H, Turkstra F, van der Laken CJ, van Schaardenburg D. The value of ultrasonography in predicting arthritis in auto-antibody positive arthralgia patients: a prospective cohort study. *Arthritis Res Ther.* 2010;12(3):R98.
- 30) Gent YY, Voskuyl AE, Kloet RW, van Schaardenburg D, Hoekstra OS, Dijkmans BA, Lammertsma AA,

- van der Laken CJ. Macrophage positron emission tomography imaging as a biomarker for preclinical rheumatoid arthritis: findings of a prospective pilot study. *Arthritis Rheum.* 2012 Jan;64(1):62-6.
- 31) van Baarsen LG, de Hair MJ, Ramwadhoebe TH, Zijlstra IJ, Maas M, Gerlag DM, Tak PP. The cellular composition of lymph nodes in the earliest phase of inflammatory arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2013 Aug;72(8):1420-4.
- 32) Ioan-Facsinay A, Willemze A, Robinson DB, Peschken CA, Markland J, van der Woude D, Elias B, Ménard HA, Newkirk M, Fritzler MJ, Toes RE, Huizinga TW, El-Gabalawy HS. Marked differences in fine specificity and isotype usage of the anti-citrullinated protein antibody in health and disease. *Arthritis Rheum.* 2008 Oct;58(10):3000-8.
- 33) Hughes-Austin JM, Deane KD, Derber LA, Kolfenbach JR, Zerbe GO, Sokolove J, Lahey LJ, Weisman MH, Buckner JH, Mikuls TR, O'Dell JR, Keating RM, Gregersen PK, Robinson WH, Holers VM, Norris JM. Multiple cytokines and chemokines are associated with rheumatoid arthritis-related autoimmunity in first-degree relatives without rheumatoid arthritis: Studies of the Aetiology of Rheumatoid Arthritis (SERA). *Ann Rheum Dis.* 2013 Jun;72(6):901-7.
- 34) El-Gabalawy HS, Robinson DB, Smolik I, Hart D, Elias B, Wong K, Peschken CA, Hitchon CA, Li X, Bernstein CN, Newkirk MM, Fritzler MJ. Familial clustering of the serum cytokine profile in the relatives of rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum.* 2012 Jun;64(6):1720-9.
- 35) Kolfenbach JR, Deane KD, Derber LA, O'Donnell C, Weisman MH, Buckner JH, Gersuk VH, Wei S, Mikuls TR, O'Dell J, Gregersen PK, Keating RM, Norris JM, Holers VM. A prospective approach to investigating the natural history of preclinical rheumatoid arthritis (RA) using first-degree relatives of probands with RA. *Arthritis Rheum.* 2009 Dec 15;61(12):1735-42.
- 36) 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.* 2015 Dec;67(12):3324-6.
- 37) Goeldner I, Skare TL, de Messias Reason IT, Nishihara RM, Silva MB, Utiyama SR. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor in rheumatoid arthritis patients and relatives from Brazil. *Rheumatology (Oxford).* 2010 Aug;49(8):1590-3.
- 38) Tasliyurt T, Kisacik B, Kaya SU, Yildirim B, Pehlivan Y, Kutluturk F, Ozyurt H, Sahin S, Onat AM. The frequency of antibodies against cyclic citrullinated peptides and rheumatoid factor in healthy population: a field study of rheumatoid arthritis from northern Turkey. *Rheumatol Int.* 2013 Apr;33(4):939-42.
- 39) Terao C, Ohmura K, Ikari K, Kawaguchi T, Takahashi M, Setoh K, Nakayama T, Kosugi S, Sekine A, Tabara Y, Taniguchi A, Momohara S, Yamanaka H, Yamada R, Matsuda F, Mimori T; Nagahama Study Group. Effects of smoking and shared epitope on the production of anti-citrullinated peptide antibody in

- a Japanese adult population. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2014 Dec;66(12):1818-27.
- 40) Henvold AH, Magnusson PK, Joshua V, Hansson M, Israelsson L, Ferreira R, Jakobsson PJ, Holmdahl R, Hammarström L, Malmström V, Askling J, Klareskog L, Catrina AI. Environmental and genetic factors in the development of anticitrullinated protein antibodies (ACPAs) and ACPA-positive rheumatoid arthritis: an epidemiological investigation in twins. *Ann Rheum Dis*. 2015 Feb;74(2):375-80.
- 41) van Zanten A, Arends S, Rozendaal C, Limburg PC, Maas F, Trouw LA, Toes REM, Huizinga TWJ, Bootsma H, Brouwer E. Presence of anticitrullinated protein antibodies in a large population-based cohort from the Netherlands. *Ann Rheum Dis*. 2017 Jul;76(7):1184-1190
- 42) van der Helm-van Mil AH, le Cessie S, van Dongen H, Breedveld FC, Toes RE, Huizinga TW. A prediction rule for disease outcome in patients with recent-onset undifferentiated arthritis: how to guide individual treatment decisions. *Arthritis Rheum*. 2007 Feb;56(2):433-40.
- 43) Bizzaro N, Bartoloni E, Morozzi G, Manganelli S, Riccieri V, Sabatini P, Filippini M, Tampone M, Afeltra A, Sebastiani G, Alpini C, Bini V, Bistoni O, Alunno A, Gerli R; Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA Group). Anti-cyclic citrullinated peptide antibody titer predicts time to rheumatoid arthritis onset in patients with undifferentiated arthritis: results from a 2-year prospective study. *Arthritis Res Ther*. 2013 Jan 22;15(1):R16.
- 44) Bos WH, Wolbink GJ, Boers M, Tijhuis GJ, de Vries N, van der Horst-Bruinsma IE, Tak PP, van de Stadt RJ, van der Laken CJ, Dijkmans BA, van Schaardenburg D. Arthritis development in patients with arthralgia is strongly associated with anti-citrullinated protein antibody status: a prospective cohort study. *Ann Rheum Dis*. 2010 Mar;69(3):490-4.
- 45) van de Stadt LA, van der Horst AR, de Koning MH, Bos WH, Wolbink GJ, van de Stadt RJ, Pruijn GJ, Dijkmans BA, van Schaardenburg D, Hamann D. The extent of the anti-citrullinated protein antibody repertoire is associated with arthritis development in patients with seropositive arthralgia. *Ann Rheum Dis*. 2011 Jan;70(1):128-33.
- 46) van de Stadt LA, van Sijl AM, van Schaardenburg D, Nurmohamed MT. Dyslipidaemia in patients with seropositive arthralgia predicts the development of arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2012 Nov;71(11):1915-6.
- 47) van de Stadt LA, van Schaardenburg D. Alcohol consumption protects against arthritis development in seropositive arthralgia patients. *Ann Rheum Dis*. 2012 Aug;71(8):1431-2.
- 48) de Hair MJ, Landewé RB, van de Sande MG, van Schaardenburg D, van Baarsen LG, Gerlag DM, Tak PP. Smoking and overweight determine the likelihood of developing rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2013 Oct;72(10):1654-8.
- 49) Ramos-Remus C, Castillo-Ortiz JD, Aguilar-Lozano L, Padilla-Ibarra J, Sandoval-Castro C, Vargas-Serafin CO, de la Mora-Molina H, Ramos-Gomez A, Sanchez-Ortiz A, Avila-Armengol H,

- Aceves-Avila FJ. Autoantibodies in prediction of the development of rheumatoid arthritis among healthy relatives of patients with the disease. *Arthritis Rheumatol.* 2015 Nov;67(11):2837-44.
- 50) Henvold AH, Frisell T, Magnusson PK, Holmdahl R, Askling J, Catrina AI. How well do ACPA discriminate and predict RA in the general population: a study based on 12 590 population-representative Swedish twins. *Ann Rheum Dis.* 2017 Jan;76(1):119-125.
- 51) van de Stadt LA, Witte BI, Bos WH, van Schaardenburg D. A prediction rule for the development of arthritis in seropositive arthralgia patients. *Ann Rheum Dis.* 2013 Dec;72(12):1920-6.
- 52) Rakieh C, Nam JL, Hunt L, Hensor EM, Das S, Bissell LA, Villeneuve E, McGonagle D, Hodgson R, Grainger A, Wakefield RJ, Conaghan PG, Emery P. Predicting the development of clinical arthritis in anti-CCP positive individuals with non-specific musculoskeletal symptoms: a prospective observational cohort study. *Ann Rheum Dis.* 2015 Sep;74(9):1659-66.
- 53) Nam JL, Hunt L, Hensor EM, Emery P. Enriching case selection for imminent RA: the use of anti-CCP antibodies in individuals with new non-specific musculoskeletal symptoms - a cohort study. *Ann Rheum Dis.* 2016 Aug;75(8):1452-6.
- 54) Hunt L, Hensor EM, Nam J, Burska AN, Parmar R, Emery P, Ponchel F. T cell subsets: an immunological biomarker to predict progression to clinical arthritis in ACPA-positive individuals. *Ann Rheum Dis.* 2016 Oct;75(10):1884-9.
- 55) Tak PP, Doorenspleet ME, de Hair MJH, Klarenbeek PL, van Beers-Tas MH, van Kampen AHC, van Schaardenburg D, Gerlag DM, Baas F, de Vries N. Dominant B cell receptor clones in peripheral blood predict onset of arthritis in individuals at risk for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2017 Nov;76(11):1924-1930
- 56) van Steenbergen HW, Aletaha D, Beaart-van de Voorde LJ, Brouwer E, Codreanu C, Combe B, Fonseca JE, Hetland ML, Humby F, Kvien TK, Niedermann K, Nuño L, Oliver S, Rantapää-Dahlqvist S, Raza K, van Schaardenburg D, Schett G, De Smet L, Szücs G, Vencovský J, Wiland P, de Wit M, Landewé RL, van der Helm-van Mil AH. EULAR definition of arthralgia suspicious for progression to rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2017 Mar;76(3):491-496.
- 57) Verstappen SM, McCoy MJ, Roberts C, Dale NE, Hassell AB, Symmons DP; STIVEA investigators. Beneficial effects of a 3-week course of intramuscular glucocorticoid injections in patients with very early inflammatory polyarthritis: results of the STIVEA trial. *Ann Rheum Dis.* 2010 Mar;69(3):503-9.
- 58) Machold KP, Landewé R, Smolen JS, Stamm TA, van der Heijde DM, Verpoort KN, Brickmann K, Vázquez-Mellado J, Karateev DE, Breedveld FC, Emery P, Huizinga TW. The Stop Arthritis Very Early (SAVE) trial, an international multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial on glucocorticoids in very early arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2010 Mar;69(3):495-502.

- 59) van Aken J, Heimans L, Gillet-van Dongen H, Visser K, Ronday HK, Speyer I, Peeters AJ, Huizinga TW, Allaart CF. Five-year outcomes of probable rheumatoid arthritis treated with methotrexate or placebo during the first year (the PROMPT study). *Ann Rheum Dis.* 2014 Feb;73(2):396-400.
- 60) Burgers LE, Allaart CF, Huizinga TWJ, van der Helm-van Mil AHM. Brief Report: Clinical Trials Aiming to Prevent Rheumatoid Arthritis Cannot Detect Prevention Without Adequate Risk Stratification: A Trial of Methotrexate Versus Placebo in Undifferentiated Arthritis as an Example. *Arthritis Rheumatol.* 2017 May;69(5):926-931.
- 61) Emery P, Durez P, Dougados M, Legerton CW, Becker JC, Vratsanos G, Genant HK, Peterfy C, Mitra P, Overfield S, Qi K, Westhovens R. Impact of T-cell costimulation modulation in patients with undifferentiated inflammatory arthritis or very early rheumatoid arthritis: a clinical and imaging study of abatacept (the ADJUST trial). *Ann Rheum Dis.* 2010 Mar;69(3):510-6.
- 62) Bos WH, Dijkmans BA, Boers M, van de Stadt RJ, van Schaardenburg D. Effect of dexamethasone on autoantibody levels and arthritis development in patients with arthralgia: a randomised trial. *Ann Rheum Dis.* 2010 Mar;69(3):571-4.