



**HAL**  
open science

# Association entre spécificité fine des anticorps anti protéines citrullinées (ACPA) et caractéristiques cliniques chez des patients atteints de polyarthrite rhumatoïde ACPA positive

Guillaume Larid

## ► To cite this version:

Guillaume Larid. Association entre spécificité fine des anticorps anti protéines citrullinées (ACPA) et caractéristiques cliniques chez des patients atteints de polyarthrite rhumatoïde ACPA positive. Sciences du Vivant [q-bio]. 2020. dumas-03019838

**HAL Id: dumas-03019838**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03019838>**

Submitted on 23 Nov 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**Association entre spécificité fine des anticorps anti protéines citrullinées (ACPA) et caractéristiques cliniques chez des patients atteints de polyarthrite rhumatoïde ACPA positive.**

# **T H È S E A R T I C L E**

**Présentée et publiquement soutenue devant**

**LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE MARSEILLE**

**Le 27 Octobre 2020**

**Par Monsieur Guillaume LARID**

**Né le 24 janvier 1991 à Aix-En-Provence (13)**

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

D.E.S. de RHUMATOLOGIE

**Membres du Jury de la Thèse :**

<b>Monsieur le Professeur ROUDIER Jean</b>	<b>Président</b>
<b>Madame le Docteur BALANDRAUD Nathalie</b>	<b>Directeur</b>
<b>Monsieur le Professeur LAFFORGUE Pierre</b>	<b>Assesseur</b>
<b>Madame le Professeur PHAM Thao</b>	<b>Assesseur</b>
<b>Monsieur le Docteur (MCU-PH) VELY Frédéric</b>	<b>Assesseur</b>

## FACULTÉ DES SCIENCES MÉDICALES & PARAMÉDICALES

<b>Doyen</b>	:	<b>Pr. Georges LEONETTI</b>
Vice-Doyen aux affaires générales	:	Pr. Patrick DESSI
Vice-Doyen aux professions paramédicales	:	Pr. Philippe BERBIS
Conseiller	:	Pr. Patrick VILLANI

### **Asseseurs :**

➤ aux études	:	Pr. Kathia CHAUMOITRE
➤ à la recherche	:	Pr. Jean-Louis MEGE
➤ à l'unité mixte de formation continue en santé	:	Pr. Justin MICHEL
➤ pour le secteur NORD	:	Pr. Stéphane BERDAH
➤ Groupements Hospitaliers de territoire	:	Pr. Jean-Noël ARGENSON
➤ aux masters	:	Pr. Pascal ADALIAN

### **Chargés de mission :**

➤ sciences humaines et sociales	:	Pr. Pierre LE COZ
➤ relations internationales	:	Pr. Stéphane RANQUE
➤ DU/DIU	:	Pr. Véronique VITTON
➤ DPC, disciplines médicales & biologiques	:	Pr. Frédéric CASTINETTI
➤ DPC, disciplines chirurgicales	:	Dr. Thomas GRAILLON

## ÉCOLE DE MEDECINE

<b>Directeur</b>	:	<b>Pr. Jean-Michel VITON</b>
------------------	---	------------------------------

### **Chargés de mission**

▪ PACES – Post-PACES	:	Pr. Régis GUIEU
▪ DFGSM	:	Pr. Anne-Laure PELISSIER
▪ DFASM	:	Pr. Marie-Aleth RICHARD
▪ DFASM	:	Pr. Marc BARTHET
▪ Préparation aux ECN	:	Dr Aurélie DAUMAS
▪ DES spécialités	:	Pr. Pierre-Edouard FOURNIER
▪ DES stages hospitaliers	:	Pr. Benjamin BLONDEL
▪ DES MG	:	Pr. Christophe BARTOLI
▪ Démographie médicale	:	Dr. Noémie RESSEGUIER
▪ Etudiant	:	Elise DOMINJON

## ÉCOLE DE DE MAIEUTIQUE

**Directrice** : **Madame Carole ZAKARIAN**

**Chargés de mission**

- 1<sup>er</sup> cycle : Madame Estelle BOISSIER
- 2<sup>ème</sup> cycle : Madame Cécile NINA

## ÉCOLE DES SCIENCES DE LA RÉADAPTATION

**Directeur** : **Monsieur Philippe SAUVAGEON**

**Chargés de mission**

- Masso- kinésithérapie 1<sup>er</sup> cycle : Madame Béatrice CAORS
- Masso-kinésithérapie 2<sup>ème</sup> cycle : Madame Joannie HENRY
- Mutualisation des enseignements : Madame Géraldine DEPRES

## ÉCOLE DES SCIENCES INFIRMIERES

**Directeur** : **Monsieur Sébastien COLSON**

**Chargés de mission**

- Chargée de mission : Madame Sandrine MAYEN RODRIGUES
- Chargé de mission : Monsieur Christophe ROMAN

## PROFESSEURS HONORAIRES

MM AGOSTINI Serge  
ALDIGHIERI René  
ALESSANDRINI Pierre  
ALLIEZ Bernard  
AQUARON Robert  
ARGEME Maxime  
ASSADOURIAN Robert  
AUFFRAY Jean-Pierre  
AUTILLO-TOUATI Amapola  
AZORIN Jean-Michel  
BAILLE Yves  
BARDOT Jacques  
BARDOT André  
BERARD Pierre  
BERGOIN Maurice  
BERLAND Yvon  
BERNARD Dominique  
BERNARD Jean-Louis  
BERNARD Pierre-Marie  
BERTRAND Edmond  
BISSET Jean-Pierre  
BLANC Bernard  
BLANC Jean-Louis  
BOLLINI Gérard  
BONGRAND Pierre  
BONNEAU Henri  
BONNOIT Jean  
BORY Michel  
BOTTA Alain  
BOURGEADE Augustin  
BOUVENOT Gilles  
BOUYALA Jean-Marie  
BREMONT Georges  
BRICOT René  
BRUNET Christian  
BUREAU Henri  
CAMBOULIVES Jean  
CANNONI Maurice  
CARTOUZOU Guy  
CAU Pierre  
CHABOT Jean-Michel  
CHAMLIAN Albert  
CHARPIN Denis  
CHARREL Michel  
CHAUVEL Patrick  
CHOUX Maurice  
CIANFARANI François  
CLAVERIE Jean-Michel  
CLEMENT Robert  
COMBALBERT André  
CONTE-DEVOLX Bernard  
CORRIOL Jacques  
COULANGE Christian  
DALMAS Henri  
DE MICO Philippe  
DESSEIN Alain  
DELARQUE Alain  
DEVIN Robert  
DEVRED Philippe  
DJIANE Pierre  
DONNET Vincent  
DUCASSOU Jacques

MM DUFOUR Michel  
DUMON Henri  
ENJALBERT Alain  
FAVRE Roger  
FIECHI Marius  
FARNARIER Georges  
FIGARELLA Jacques  
FONTES Michel  
FRANCES Yves  
FRANCOIS Georges  
FUENTES Pierre  
GABRIEL Bernard  
GALINIER Louis  
GALLAIS Hervé  
GAMERRE Marc  
GARCIN Michel  
GARNIER Jean-Marc  
GAUTHIER André  
GERARD Raymond  
GEROLAMI-SANTANDREA André  
GIUDICELLI Roger  
GIUDICELLI Sébastien  
GOUDARD Alain  
GOUIN François  
GRILLO Jean-Marie  
GRISOLI François  
GROULIER Pierre  
HADIDA/SAYAG Jacqueline  
HASSOUN Jacques  
HEIM Marc  
HOUEL Jean  
HUGUET Jean-François  
JAQUET Philippe  
JAMMES Yves  
JOUVE Paulette  
JUHAN Claude  
JUN Pierre  
KAPHAN Gérard  
KASBARIAN Michel  
KLEISBAUER Jean-Pierre  
LACHARD Jean  
LAFFARGUE Pierre  
LAUGIER René  
LE TREUT Yves  
LEVY Samuel  
LOUCHET Edmond  
LOUIS René  
LUCIANI Jean-Marie  
MAGALON Guy  
MAGNAN Jacques  
MALLAN- MANCINI Josette  
MALMEJAC Claude  
MARANINCHI Dominique  
MARTIN Claude  
MATTEI Jean François  
MERCIER Claude  
METGE Paul  
MICHOTÉY Georges  
MIRANDA François  
MONFORT Gérard  
MONGES André  
MONGIN Maurice

## PROFESSEURS HONORAIRES

MM MONTIES Jean-Raoul  
NAZARIAN Serge  
NICOLI René  
NOIRCLERC Michel  
OLMER Michel  
OREHEK Jean  
PAPY Jean-Jacques  
PAULIN Raymond  
PELOUX Yves  
PENAUD Antony  
PENE Pierre  
PIANA Lucien  
PICAUD Robert  
PIGNOL Fernand  
POGGI Louis  
POITOUT Dominique  
PONCET Michel  
POUGET Jean  
PRIVAT Yvan  
QUILICHINI Francis  
RANQUE Jacques  
RANQUE Philippe  
RICHAUD Christian  
RIDINGS Bernard  
ROCHAT Hervé  
ROHNER Jean-Jacques  
ROUX Hubert  
ROUX Michel  
RUFO Marcel  
SAHEL José  
SALAMON Georges  
SALDUCCI Jacques  
SAN MARCO Jean-Louis  
SANKALE Marc  
SARACCO Jacques  
SARLES Jacques  
SASTRE Bernard  
SCHIANO Alain  
SCOTTO Jean-Claude  
SEBAHOUN Gérard  
SERMENT Gérard  
SOULAYROL René  
STAHL André  
TAMALET Jacques  
TARANGER-CHARPIN Colette  
THOMASSIN Jean-Marc  
UNAL Daniel  
VAGUE Philippe  
VAGUE/JUHAN Irène  
VANUXEM Paul  
VERVLOET Daniel  
VIALETTES Bernard  
WEILLER Pierre-Jean



## EMERITAT

### 2008

M. le Professeur	LEVY Samuel	31/08/2011
Mme le Professeur	JUHAN-VAGUE Irène	31/08/2011
M. le Professeur	PONCET Michel	31/08/2011
M. le Professeur	KASBARIAN Michel	31/08/2011
M. le Professeur	ROBERTOUX Pierre	31/08/2011

### 2009

M. le Professeur	DJIANE Pierre	31/08/2011
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2012

### 2010

M. le Professeur	MAGNAN Jacques	31/12/2014
------------------	----------------	------------

### 2011

M. le Professeur	DI MARINO Vincent	31/08/2015
M. le Professeur	MARTIN Pierre	31/08/2015
M. le Professeur	METRAS Dominique	31/08/2015

### 2012

M. le Professeur	AUBANIAC Jean-Manuel	31/08/2015
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2015
M. le Professeur	CAMBOULIVES Jean	31/08/2015
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2015
M. le Professeur	MATTEI Jean-François	31/08/2015
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2015
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2015

### 2013

M. le Professeur	BRANCHEREAU Alain	31/08/2016
M. le Professeur	CARAYON Pierre	31/08/2016
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2016
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2016
M. le Professeur	HENRY Jean-François	31/08/2016
M. le Professeur	LE GUICHAOUA Marie-Roberte	31/08/2016
M. le Professeur	RUFO Marcel	31/08/2016
M. le Professeur	SEBAHOUN Gérard	31/08/2016

### 2014

M. le Professeur	FUENTES Pierre	31/08/2017
M. le Professeur	GAMERRE Marc	31/08/2017
M. le Professeur	MAGALON Guy	31/08/2017
M. le Professeur	PERAGUT Jean-Claude	31/08/2017
M. le Professeur	WEILLER Pierre-Jean	31/08/2017

### 2015

M. le Professeur	COULANGE Christian	31/08/2018
M. le Professeur	COURAND François	31/08/2018
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2016
M. le Professeur	MATTEI Jean-François	31/08/2016
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2016
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2016

## EMERITAT

### 2016

M. le Professeur	BONGRAND Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2017
M. le Professeur	BRUNET Christian	31/08/2019
M. le Professeur	CAU Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2017
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2017
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2019
M. le Professeur	JAMMES Yves	31/08/2019
M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2019
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2017
M. le Professeur	POITOUT Dominique	31/08/2019
M. le Professeur	SEBAHOUN Gérard	31/08/2017
M. le Professeur	VIALETES Bernard	31/08/2019

### 2017

M. le Professeur	ALESSANDRINI Pierre	31/08/2020
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2018
M. le Professeur	CHAUVEL Patrick	31/08/2020
M. le Professeur	COZZONE Pierre	31/08/2018
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2018
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2018
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2018
M. le Professeur	SEBBAHOUN Gérard	31/08/2018

### 2018

M. le Professeur	MARANINCHI Dominique	31/08/2021
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2019
M. le Professeur	COZZONE Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2019
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2019
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2019

### 2019

M. le Professeur	BERLAND Yvon	31/08/2022
M. le Professeur	CHARPIN Denis	31/08/2022
M. le Professeur	CLAVERIE Jean-Michel	31/08/2022
M. le Professeur	FRANCES Yves	31/08/2022
M. le Professeur	CAU Pierre	31/08/2020
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2020
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2020
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2020
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2020
M. le Professeur	MAGALON Guy	31/08/2020
M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2020
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2020
M. le Professeur	WEILLER Pierre-Jean	31/08/2020



## PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

AGOSTINI FERRANDES Aubert	CHOSSEGROS Cyrille	GUEDJ Eric
ALBANESE Jacques	COLLART Frédéric	GUIEU Régis
ALIMI Yves	COSTELLO Régis	GUIS Sandrine
AMABILE Philippe	COURBIERE Blandine	GUYE Maxime
AMBROSI Pierre	COWEN Didier	GUYOT Laurent
ANDRE Nicolas	CRAVELLO Ludovic	<i>GUYS Jean-Michel Surnombre</i>
ARGENSON Jean-Noël	CUISSET Thomas	HABIB Gilbert
ASTOUL Philippe	<i>CURVALE Georges Surnombre</i>	HARDWIGSEN Jean
ATTARIAN Shahram	DA FONSECA David	HARLE Jean-Robert
AUDOUIN Bertrand	DAHAN-ALCARAZ Laetitia	<i>HOFFART Louis Disponibilité</i>
AUQUIER Pascal	DANIEL Laurent	HOUVENAEGHEL Gilles
AVIERINOS Jean-François	DARMON Patrice	JACQUIER Alexis
AZULAY Jean-Philippe	D'ERCOLE Claude	JOURDE-CHICHE Noémie
BAILLY Daniel	D'JOURNO Xavier	JOUVE Jean-Luc
BARLESI Fabrice	DEHARO Jean-Claude	KAPLANSKI Gilles
BARLIER-SETTI Anne	DELAPORTE Emmanuel	KARSENTY Gilles
BARTHET Marc	<i>DELPERO Jean-Robert Surnombre</i>	<i>KERBAUL François détachement</i>
BARTOLI Christophe	DENIS Danièle	KRAHN Martin
BARTOLI Jean-Michel	DISDIER Patrick	LAFFORGUE Pierre
BARTOLI Michel	DODDOLI Christophe	LAGIER Jean-Christophe
BARTOLOMEI Fabrice	DRANCOURT Michel	LAMBAUDIE Eric
BASTIDE Cyrille	DUBUS Jean-Christophe	LANCON Christophe
BENSOUSSAN Laurent	DUFFAUD Florence	LA SCOLA Bernard
BERBIS Philippe	DUFOUR Henry	LAUNAY Franck
BERBIS Julie	DURAND Jean-Marc	LAVIEILLE Jean-Pierre
BERDAH Stéphane	DUSSOL Bertrand	LE CORROLLER Thomas
<i>BERNARD Jean-Paul Retraite au 25/11/2019</i>	EBBO Mikaël	LECHEVALLIER Eric
BEROUD Christophe	EUSEBIO Alexandre	LEGRE Régis
BERTUCCI François	FAKHRY Nicolas	LEHUCHER-MICHEL Marie-Pascale
BLAISE Didier	<i>FAUGERE Gérard Surnombre</i>	LEONE Marc
BLIN Olivier	FELICIAN Olivier	LEONETTI Georges
BLONDEL Benjamin	FENOLLAR Florence	LEPIDI Hubert
BONIN/GUILLAUME Sylvie	FIGARELLA/BRANGER Dominique	LEVY Nicolas
BONELLO Laurent	FLECHER Xavier	MACE Loïc
BONNET Jean-Louis	FOURNIER Pierre-Edouard	MAGNAN Pierre-Edouard
<i>BOTTA/FRIDLUND Danielle Surnombre</i>	FRANCESCHI Frédéric	MANCINI Julien
<i>BOUBLI Léon Surnombre</i>	FUENTES Stéphane	<i>MATONTI Frédéric Disponibilité</i>
BOUFI Mourad	GABERT Jean	MEGE Jean-Louis
BOYER Laurent	GABORIT Bénédicte	MERROT Thierry
BREGEON Fabienne	GAINNIER Marc	METZLER/GUILLEMAIN Catherine
BRETELLE Florence	GARCIA Stéphane	MEYER/DUTOUR Anne
BROUQUI Philippe	GARIBOLDI Vlad	MICCALEF/ROLL Joëlle
BRUDER Nicolas	GAUDART Jean	MICHEL Fabrice
BRUE Thierry	GAUDY-MARQUESTE Caroline	MICHEL Gérard
BRUNET Philippe	GENTILE Stéphanie	MICHEL Justin
BURTEY Stéphane	GERBEAUX Patrick	MICHELET Pierre
CARCOPINO-TUSOLI Xavier	GEROLAMI/SANTANDREA René	MILH Mathieu
CASANOVA Dominique	GILBERT/ALESSI Marie-Christine	MILLION Matthieu
CASTINETTI Frédéric	GIORGI Roch	MOAL Valérie
CECCALDI Mathieu	GIOVANNI Antoine	MORANGE Pierre-Emmanuel
CHAGNAUD Christophe	GIRARD Nadine	MOULIN Guy
CHAMBOST Hervé	GIRAUD/CHABROL Brigitte	MOUTARDIER Vincent
CHAMPSAUR Pierre	GONCALVES Anthony	<i>MUNDLER Olivier Surnombre</i>
CHANEZ Pascal	GRANEL/REY Brigitte	NAUDIN Jean
CHARAFFE-JAUFFRET Emmanuelle	GRANVAL Philippe	NICOLAS DE LAMBALLERIE Xavier
CHARREL Rémi	GREILLIER Laurent	NICOLLAS Richard
CHAUMOITRE Kathia	GRIMAUD Jean-Charles	OLIVE Daniel
CHIARONI Jacques	GROB Jean-Jacques	OUAFIK L'Houcine
CHINOT Olivier		OVAERT-REGGIO Caroline

## PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

PAGANELLI Franck	ROCH Antoine	TRIGLIA Jean-Michel
PANUEL Michel	ROCHWERGER Richard	TROPIANO Patrick
PAPAZIAN Laurent	ROLL Patrice	TSIMARATOS Michel
PAROLA Philippe	ROSSI Dominique	TURRINI Olivier
<i>PARRATTE Sébastien Disponibilité</i>	ROSSI Pascal	VALERO René
PELISSIER-ALICOT Anne-Laure	ROUDIER Jean	VAROQUAUX Arthur Damien
PELLETIER Jean	SALAS Sébastien	VELLY Lionel
PERRIN Jeanne	<i>SAMBUC Roland Surnombre</i>	VEY Norbert
PETIT Philippe	SARLES/PHILIP Nicole	VIDAL Vincent
PHAM Thao	SARLON-BARTOLI Gabrielle	VIENS Patrice
PIERCECCHI/MARTI Marie-Dominique	SCAVARDA Didier	VILLANI Patrick
PIQUET Philippe	SCHLEINITZ Nicolas	VITON Jean-Michel
PIRRO Nicolas	SEBAG Frédéric	VITTON Véronique
POINSO François	SEITZ Jean-François	VIEHWEGER Heide Elke
RACCAH Denis	SIELEZNEFF Igor	VIVIER Eric
RANQUE Stéphane	SIMON Nicolas	XERRI Luc
RAOULT Didier	STEIN Andréas	
REGIS Jean	TAIEB David	
REYNAUD/GAUBERT Martine	THIRION Xavier	
REYNAUD Rachel	THOMAS Pascal	
RICHARD/LALLEMAND Marie-Aleth	THUNY Franck	
ROCHE Pierre-Hugues	TREBUCHON-DA FONSECA Agnès	

---

### PROFESSEUR DES UNIVERSITES

ADALIAN Pascal  
AGHABABIAN Valérie  
BELIN Pascal  
CHABANNON Christian  
CHABRIERE Eric  
FERON François  
LE COZ Pierre  
LEVASSEUR Anthony  
RANJEVA Jean-Philippe  
SOBOL Hagay

### PROFESSEUR CERTIFIE

BRANDENBURGER Chantal

### PRAG

TANTI-HARDOUIN Nicolas

### PROFESSEUR DES UNIVERSITES MEDECINE GENERALE

GENTILE Gaëtan

### PROFESSEUR ASSOCIE DE MEDECINE GENERALE A MI-TEMPS

ADNOT Sébastien  
GUIDA Pierre

### PROFESSEUR ASSOCIE DES UNIVERSITES (disciplines médicales)

LOUIS-BORRIONE Claude



## MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

AHERFI Sarah	ELDIN Carole	NINOVE Laetitia
ANGELAKIS Emmanouil ( <i>disponibilité</i> )	FABRE Alexandre	NOUGAIREDE Antoine
ATLAN Catherine ( <i>disponibilité</i> )	FAURE Alice	OLLIVIER Matthieu
BARTHELEMY Pierre	FOLETTI Jean- Marc	PAULMYER/LACROIX Odile
BEGE Thierry	FOUILLOUX Virginie	PESENTI Sébastien
BELIARD Sophie	FRANKEL Diane	RADULESCO Thomas
BENYAMINE Audrey	FROMNOT Julien	RESSEGUIER Noémie
BERGE-LEFRANC Jean-Louis	GASTALDI Marguerite	ROBERT Philippe
BERTRAND Baptiste	GELSI/BOYER Véronique	ROMANET Pauline
BEYER-BERJOT Laura	GIUSIANO Bernard	SABATIER Renaud
BIRNBAUM David	GIUSIANO COURCAMBECK Sophie	SARI-MINODIER Irène
BONINI Francesca	GONZALEZ Jean-Michel	SAVEANU Alexandru
BOUCRAUT Joseph	GOURIET Frédérique	SECQ Véronique ( <i>disponibilité</i> )
BOULAMERY Audrey	GRAILLON Thomas	STELLMANN Jan-Patrick
BOULLU/CIOCCA Sandrine	GUERIN Carole	SUCHON Pierre
BOUSSEN Salah Michel	GUENOUN MEYSSIGNAC Daphné	TABOURET Emeline
BUFFAT Christophe	GUIDON Catherine	TOGA Caroline
CAMILLERI Serge	GUIVARCH Jokthan	TOGA Isabelle
CARRON Romain	HAUTIER/KRAHN Aurélie	TOMASINI Pascale
CASSAGNE Carole	HRAIECH Sami	TOSELLO Barthélémy
CERMOLACCE Michel	KASPI-PEZZOLI Elise	TROUSSE Delphine
CHAUDET Hervé	L'OLLIVIER Coralie	TUCHTAN-TORRENTS Lucile
CHRETIEN Anne-Sophie	LABIT-BOUVIER Corinne	VELY Frédéric
COZE Carole	LAFAGE/POCHITALOFF-HUVALE Marina	VION-DURY Jean
CUNY Thomas	LAGIER Aude ( <i>disponibilité</i> )	ZATTARA/CANNONI Hélène
DADOUN Frédéric ( <i>disponibilité</i> )	LAGOUANELLE/SIMEONI Marie-Claude	
DALES Jean-Philippe	LEVY/MOZZICONACCI Annie	
DAUMAS Aurélie	LOOSVELD Marie	
DEGEORGES/VITTE Joëlle	MAAROUF Adil	
DELLIAUX Stéphane	MACAGNO Nicolas	
DESPLAT/JEGO Sophie	MAUES DE PAULA André	
DEVILLIER Raynier	MOTTOLA GHIGO Giovanna	
DUBOURG Grégory	NGUYEN PHONG Karine	
DUCONSEIL Pauline		
DUFOUR Jean-Charles		

---

## MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

(mono-appartenants)

ABU ZAINEH Mohammad	DEGIOANNI/SALLE Anna	POUGET Benoît
BARBACARU/PERLES T. A.	DESNUES Benoît	RUEL Jérôme
BERLAND/BENHAIM Caroline	MARANINCHI Marie	THOLLON Lionel
BOUCAULT/GARROUSTE Françoise	MERHEJ/CHAUVEAU Vicky	THIRION Sylvie
BOYER Sylvie	MINVIELLE/DEVICTOR Bénédicte	VERNA Emeline
COLSON Sébastien	POGGI Marjorie	

## MAITRE DE CONFERENCES DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

CASANOVA Ludovic

## MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES DE MEDECINE GENERALE à MI-TEMPS

BARGIER Jacques  
BONNET Pierre-André  
CALVET-MONTREDON Céline  
JANCZEWSKI Aurélie  
NUSSLI Nicolas  
ROUSSEAU-DURAND Raphaëlle  
THERY Didier (nomination au 1/10/2019)

**MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE à MI-TEMPS**

BOURRIQUEN Maryline  
EVANS-VIALLAT Catherine  
LUCAS Guillaume  
MATHIEU Marion  
MAYENS-RODRIGUES Sandrine  
MELLINAS Marie  
REVIS Joana  
ROMAN Christophe  
TRINQUET Laure

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES et MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS  
PROFESSEURS ASSOCIES, MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES mono-appartenants**

**ANATOMIE 4201**

CHAMPSAUR Pierre (PU-PH)  
LE CORROLLER Thomas (PU-PH)  
PIRRO Nicolas (PU-PH)

GUENOUN-MEYSSIGNAC Daphné (MCU-PH)  
LAGIER Aude (MCU-PH) *disponibilité*

THOLLON Lionel (MCF) (60ème section)

**ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES 4203**

CHARAFE/JAUFFRET Emmanuelle (PU-PH)  
DANIEL Laurent (PU-PH)  
FIGARELLA/BRANGER Dominique (PU-PH)  
GARCIA Stéphane (PU-PH)  
XERRI Luc (PU-PH)

DALES Jean-Philippe (MCU-PH)  
GIUSIANO COURCAMBECK Sophie (MCU PH)  
LABIT/BOUVIER Corinne (MCU-PH)  
MACAGNO Nicolas (MCU-PH)  
MAUES DE PAULA André (MCU-PH)  
SECQ Véronique (MCU-PH) *disponibilité*

**ANESTHESIOLOGIE ET REANIMATION CHIRURGICALE ;  
MEDECINE URGENCE 4801**

ALBANESE Jacques (PU-PH)  
BRUDER Nicolas (PU-PH)  
LEONE Marc (PU-PH)  
MICHEL Fabrice (PU-PH)  
VELLY Lionel (PU-PH)

BOUSSEN Salah Michel (MCU-PH)  
GUIDON Catherine (MCU-PH)

**ANTHROPOLOGIE 20**

ADALIAN Pascal (PR)

DEGIOANNI/SALLE Anna (MCF)  
POUGET Benoît (MCF)  
VERNA Emeline (MCF)

**BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE ; HYGIENE HOSPITALIERE 4501**

CHARREL Rémi (PU PH)  
DRANCOURT Michel (PU-PH)  
FENOLLAR Florence (PU-PH)  
FOURNIER Pierre-Edouard (PU-PH)  
NICOLAS DE LAMBALLERIE Xavier (PU-PH)  
LA SCOLA Bernard (PU-PH)  
RAOULT Didier (PU-PH)

AHERFI Sarah (MCU-PH)  
ANGELAKIS Emmanouil (MCU-PH) *disponibilité*  
DUBOURG Grégory (MCU-PH)  
GOURIET Frédérique (MCU-PH)  
NOUGAIREDE Antoine (MCU-PH)  
NINOVE Laetitia (MCU-PH)

CHABRIERE Eric (PR) (64ème section)

LEVASSEUR Anthony (PR) (64ème section)  
DESNUES Benoit (MCF) ( 65ème section )  
MERHEJ/CHAUVEAU Vicky (MCF) (87ème section)

**BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE 4401**

BARLIER/SETTI Anne (PU-PH)  
GABERT Jean (PU-PH)  
GUIEU Régis (PU-PH)  
OUAFIK L'Houcine (PU-PH)

BUFFAT Christophe (MCU-PH)  
FROMNOT Julien (MCU-PH)  
MOTTOLA GHIGO Giovanna (MCU-PH)  
ROMANET Pauline (MCU-PH)  
SAVEANU Alexandru (MCU-PH)

**ANGLAIS 11**

BRANDENBURGER Chantal (PRCE)

**BIOLOGIE CELLULAIRE 4403**

ROLL Patrice (PU-PH)

FRANKEL Diane (MCU-PH)  
GASTALDI Marguerite (MCU-PH)  
KASPI-PEZZOLI Elise (MCU-PH)  
LEVY-MOZZICONNACCI Annie (MCU-PH)

**BIOLOGIE ET MEDECINE DU DEVELOPPEMENT  
ET DE LA REPRODUCTION ; GYNECOLOGIE MEDICALE 5405**

METZLER/GUILLEMAIN Catherine (PU-PH)  
PERRIN Jeanne (PU-PH)  
DRH Campus Timone

MAJ 01.09.2019



GUEDJ Eric (PU-PH)  
 GUYE Maxime (PU-PH)  
 MUNDLER Olivier (PU-PH) *Surnombre*  
 TAIEB David (PU-PH)

BELIN Pascal (PR) (69ème section)  
 RANJEVA Jean-Philippe (PR) (69ème section)

CAMMILLERI Serge (MCU-PH)  
 VION-DURY Jean (MCU-PH)

BARBACARU/PERLES Téodora Adriana (MCF) (69ème section)

**BIostatistiques, Informatique Médicale  
 ET Technologies de Communication 4604**

GAUDART Jean (PU-PH)  
 GIORGI Roch (PU-PH)  
 MANCINI Julien (PU-PH)

CHAUDET Hervé (MCU-PH)  
 DUFOUR Jean-Charles (MCU-PH)  
 GIUSIANO Bernard (MCU-PH)

ABU ZAINEH Mohammad (MCF) (5ème section)  
 BOYER Sylvie (MCF) (5ème section)

**CHIRURGIE ORTHOPÉDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE 5002**

ARGENSON Jean-Noël (PU-PH)  
 BLONDEL Benjamin (PU-PH)  
 CURVALE Georges (PU-PH) *Surnombre*  
 FLECHER Xavier (PU PH)  
 PARRATTE Sébastien (PU-PH) *Disponibilité*  
 ROCHWERGER Richard (PU-PH)  
 TROPIANO Patrick (PU-PH)

OLLIVIER Matthieu (MCU-PH)

**CANCEROLOGIE ; RADIOTHERAPIE 4702**

BERTUCCI François (PU-PH)  
 CHINOT Olivier (PU-PH)  
 COWEN Didier (PU-PH)  
 DUFFAUD Florence (PU-PH)  
 GONCALVES Anthony PU-PH)  
 HOUVENAEGHEL Gilles (PU-PH)  
 LAMBAUDIE Eric (PU-PH)  
 SALAS Sébastien (PU-PH)  
 VIENS Patrice (PU-PH)

SABATIER Renaud (MCU-PH)  
 TABOURET Emeline (MCU-PH)

AVIERINOS Jean-François (PU-PH)  
 BONELLO Laurent (PU PH)  
 BONNET Jean-Louis (PU-PH)  
 CUISSET Thomas (PU-PH)  
 DEHARO Jean-Claude (PU-PH)  
 FRANCESCHI Frédéric (PU-PH)  
 HABIB Gilbert (PU-PH)  
 PAGANELLI Franck (PU-PH)  
 THUNY Franck (PU-PH)

**CHIRURGIE VISCÉRALE ET DIGESTIVE 5202**

BERDAH Stéphane (PU-PH)  
 DELPERO Jean-Robert (PU-PH) *Surnombre*  
 HARDWIGSEN Jean (PU-PH)  
 MOUTARDIER Vincent (PU-PH)  
 SEBAG Frédéric (PU-PH)  
 SIELEZNEFF Igor (PU-PH)  
 TURRINI Olivier (PU-PH)

BEGE Thierry (MCU-PH)  
 BEYER-BERJOT Laura (MCU-PH)  
 BIRNBAUM David (MCU-PH)  
 DUCONSEIL Pauline (MCU-PH)  
 GUERIN Carole (MCU PH)

**CHIRURGIE INFANTILE 5402**

GUYE Jean-Michel (PU-PH) *Surnombre*  
 JOUVE Jean-Luc (PU-PH)  
 LAUNAY Franck (PU-PH)  
 MERROT Thierry (PU-PH)  
 VIEHWEGER Heide Elke (PU-PH)  
 FAURE Alice (MCU PH)  
 PESENTI Sébastien (MCU-PH)

LOUIS-BORRIONE Claude (PR associé des Universités)

**CHIRURGIE MAXILLO-FACIALE ET STOMATOLOGIE 5503**

CHOSSEGROS Cyrille (PU-PH)  
 GUYOT Laurent (PU-PH)  
 FOLETTI Jean-Marc (MCU-PH)

**CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE 5103**

COLLART Frédéric (PU-PH)  
 D'JOURNO Xavier (PU-PH)  
 DODDOLI Christophe (PU-PH)  
 GARIBOLDI Vlad (PU-PH)  
 MACE Loïc (PU-PH)  
 THOMAS Pascal (PU-PH)

FOUILLOUX Virginie (MCU-PH)  
 TROUSSE Delphine (MCU-PH)

**CHIRURGIE PLASTIQUE,****RECONSTRUCTRICE ET ESTHETIQUE ; BRÛLOGIE 5004**

CASANOVA Dominique (PU-PH)  
 LEGRE Régis (PU-PH)

BERTRAND Baptiste (MCU-PH)  
 HAUTIER/KRAHN Aurélie (MCU-PH)

**CHIRURGIE VASCULAIRE ; MEDECINE VASCULAIRE 5104**

ALIMI Yves (PU-PH)  
 AMABILE Philippe (PU-PH)  
 BARTOLI Michel (PU-PH)  
 BOUFI Mourad (PU-PH)  
 MAGNAN Pierre-Edouard (PU-PH)  
 PIQUET Philippe (PU-PH)  
 SARLON-BARTOLI Gabrielle (PU PH)

**HISTOLOGIE, EMBRYOLOGIE ET CYTOGENETIQUE 4202**

LEPIDI Hubert (PU-PH)  
 LEPIDI Hubert (PU-PH)

PAULMYER/LACROIX Odile (MCU-PH)

**GASTROENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE ; ADDICTOLOGIE 5201**

BARTHET Marc (PU-PH)  
*BERNARD Jean-Paul (PU-PH) retraite au 25/11/2019*  
*BOTTA-FRIDLUND Danielle (PU-PH) Surnombre*  
 DAHAN-ALCARAZ Laetitia (PU-PH)  
 GEROLAMI-SANTANDREA René (PU-PH)  
 GRANDVAL Philippe (PU-PH)  
 GRIMAUD Jean-Charles (PU-PH)  
 SEITZ Jean-François (PU-PH)  
 VITTON Véronique (PU-PH)

GONZALEZ Jean-Michel (MCU-PH)

**DERMATOLOGIE - VENEREOLOGIE 5003**

BERBIS Philippe (PU-PH)  
 DELAPORTE Emmanuel (PU-PH)  
 GAUDY/MARQUESTE Caroline (PU-PH)  
 GROB Jean-Jacques (PU-PH)  
 RICHARD/LALLEMAND Marie-Aleth (PU-PH)

**GENETIQUE 4704**

BEROUD Christophe (PU-PH)  
 KRAHN Martin (PU-PH)  
 LEVY Nicolas (PU-PH)  
 SARLES/PHILIP Nicole (PU-PH)

**DUSI**

COLSON Sébastien (MCF)

BOURRIQUEN Maryline (MAST)  
 EVANS-VIALLAT Catherine (MAST)  
 LUCAS Guillaume (MAST)  
 MAYEN-RODRIGUES Sandrine (MAST)  
 MELLINAS Marie (MAST)  
 ROMAN Christophe (MAST)  
 TRINQUET Laure (MAST)

NGYUEN Karine (MCU-PH)  
 TOGA Caroline (MCU-PH)  
 ZATTARA/CANNONI Hélène (MCU-PH)

**ENDOCRINOLOGIE ,DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES ;  
GYNECOLOGIE MEDICALE 5404**

BRUE Thierry (PU-PH)  
 CASTINETTI Frédéric (PU-PH)  
 CUNY Thomas (MCU PH)

**GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE ; GYNECOLOGIE MEDICALE 5403**

AGOSTINI Aubert (PU-PH)  
*BOUBLI Léon (PU-PH) Surnombre*  
 BRETELLE Florence (PU-PH)  
 CARCOPINO-TUSOLI Xavier (PU-PH)  
 COURBIERE Blandine (PU-PH)  
 CRAVELLO Ludovic (PU-PH)  
 D'ERCOLE Claude (PU-PH)



AUQUIER Pascal (PU-PH)  
 BERBIS Julie (PU-PH)  
 BOYER Laurent (PU-PH)  
 GENTILE Stéphanie (PU-PH)  
 SAMBUC Roland (PU-PH) Surnombre  
 THIRION Xavier (PU-PH)

BLAISE Didier (PU-PH)  
 COSTELLO Régis (PU-PH)  
 CHIARONI Jacques (PU-PH)  
 GILBERT/ALESSI Marie-Christine (PU-PH)  
 MORANGE Pierre-Emmanuel (PU-PH)  
 VEY Norbert (PU-PH)

LAGOUANELLE/SIMEONI Marie-Claude (MCU-PH)  
 RESSEGUIER Noémie (MCU-PH)

DEVILLIER Raynier (MCU PH)  
 GELSI/BOYER Véronique (MCU-PH)  
 LAFAGE/POCHITALOFF-HUVALE Marina (MCU-PH)  
 LOOSVELD Marie (MCU-PH)  
 SUCHON Pierre (MCU-PH)

MINVIELLE/DEVICTOR Bénédicte (MCF)(06ème section)  
 TANTI-HARDOUIN Nicolas (PRAG)

POGGI Marjorie (MCF) (64ème section)

#### IMMUNOLOGIE 4703

#### MEDECINE LEGALE ET DROIT DE LA SANTE 4603

KAPLANSKI Gilles (PU-PH)  
 MEGE Jean-Louis (PU-PH)  
 OLIVE Daniel (PU-PH)  
 VIVIER Eric (PU-PH)

BARTOLI Christophe (PU-PH)  
 LEONETTI Georges (PU-PH)  
 PELISSIER-ALICOT Anne-Laure (PU-PH)  
 PIERCECCHI-MARTI Marie-Dominique (PU-PH)

FERON François (PR) (69ème section)

TUCHTAN-TORRENTS Lucile (MCU-PH)

BOUCRAUT Joseph (MCU-PH)  
 CHRETIEN Anne-Sophie (MCU PH)  
 DEGEORGES/VITTE Joëlle (MCU-PH)  
 DESPLAT/JEGO Sophie (MCU-PH)  
 ROBERT Philippe (MCU-PH)  
 VELY Frédéric (MCU-PH)

BERLAND/BENHAIM Caroline (MCF) (1ère section)

BOUCAULT/GARROUSTE Françoise (MCF) 65ème section)

#### MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION 4905

#### MALADIES INFECTIEUSES ; MALADIES TROPICALES 4503

BENSOUSSAN Laurent (PU-PH)  
 VITON Jean-Michel (PU-PH)

BROUQUI Philippe (PU-PH)  
 LAGIER Jean-Christophe (PU-PH)  
 MILLION Matthieu (PU-PH)  
 PAROLA Philippe (PU-PH)  
 STEIN Andréas (PU-PH)

#### MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL 4602

LEHUCHER/MICHEL Marie-Pascale (PU-PH)

ELDIN Carole (MCU-PH)

#### MEDECINE D'URGENCE 4805

BERGE-LEFRANC Jean-Louis (MCU-PH)  
 SARI/MINODIER Irène (MCU-PH)

KERBAUL François (PU-PH) détachement

MICHELET Pierre (PU-PH)

#### MEDECINE INTERNE ; GERIATRIE ET BIOLOGIE DU VIEILLISSEMENT ; ADDICTOLOGIE 5301

BONIN/GUILLAUME Sylvie (PU-PH)  
 DISDIER Patrick (PU-PH)  
 DURAND Jean-Marc (PU-PH)  
 GRANEL/REY Brigitte (PU-PH)  
 HARLE Jean-Robert (PU-PH)  
 ROSSI Pascal (PU-PH)  
 SCHLEINITZ Nicolas (PU-PH)

BENYAMINE Audrey (MCU-PH)

EBBO Mikael (MCU-PH)

DRH Campus Timone

MAJ 01.09.2019

GENTILE Gaëtan (PR Méd. Gén. Temps plein)

CASANOVA Ludovic (MCF Méd. Gén. Temps plein)

ADNOT Sébastien (PR associé Méd. Gén. à mi-temps)

GUIDA Pierre (PR associé Méd. Gén. à mi-temps)

BARGIER Jacques (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

BONNET Pierre-André (MCF associé Méd. Gén à mi-temps)

CALVET-MONTREDON Céline (MCF associé Méd. Gén. à temps plein)

JANCZEWSKI Aurélie (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

NUSSLI Nicolas (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

ROUSSEAU-DURAND Raphaëlle (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

THERY Didier (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps) (nomination au 1/10/2019)

#### NUTRITION 4404

DARMON Patrice (PU-PH)

RACCAH Denis (PU-PH)

VALERO René (PU-PH)

ATLAN Catherine (MCU-PH) disponibilité

BELIARD Sophie (MCU-PH)

MARANINCHI Marie (MCF) (66ème section)

#### ONCOLOGIE 65 (BIOLOGIE CELLULAIRE)

CHABANNON Christian (PR) (66ème section)

SOBOL Hagay (PR) (65ème section)

#### OPHTALMOLOGIE 5502

DENIS Danièle (PU-PH)

HOFFART Louis (PU-PH) Disponibilité

MATONTI Frédéric (PU-PH) Disponibilité

#### OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE 5501

DESSI Patrick (PU-PH)

FAKHRY Nicolas (PU-PH)

GIOVANNI Antoine (PU-PH)

LAVIEILLE Jean-Pierre (PU-PH)

MICHEL Justin (PU-PH)

NICOLLAS Richard (PU-PH)

TRIGLIA Jean-Michel (PU-PH)

RADULESCO Thomas (MCU-PH)

REVIS Joana (MAST) (Orthophonie) (7ème Section)

BRUNET Philippe (PU-PH)

BURTEY Stéphanie (PU-PH)

DUSSOL Bertrand (PU-PH)

JOURDE CHICHE Noémie (PU PH)

MOAL Valérie (PU-PH)

#### NEUROCHIRURGIE 4902

DUFOUR Henry (PU-PH)

FUENTES Stéphane (PU-PH)

REGIS Jean (PU-PH)

ROCHE Pierre-Hugues (PU-PH)

SCAVARDA Didier (PU-PH)

CARRON Romain (MCU PH)

GRAILLON Thomas (MCU PH)

#### NEUROLOGIE 4901

ATTARIAN Sharham (PU PH)

AUDOIN Bertrand (PU-PH)

AZULAY Jean-Philippe (PU-PH)

CECCALDI Mathieu (PU-PH)

EUSEBIO Alexandre (PU-PH)

FELICIAN Olivier (PU-PH)

PELLETIER Jean (PU-PH)

MAAROUF Adil (MCU-PH)

#### PEDOPSYCHIATRIE; ADDICTOLOGIE 4904

DA FONSECA David (PU-PH)

POINSO François (PU-PH)

GUIVARCH Jokthan (MCU-PH)

#### PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE - PHARMACOLOGIE CLINIQUE; ADDICTOLOGIE 4803

BLIN Olivier (PU-PH)

FAUGERE Gérard (PU-PH) Surnombre

MICALLEF/ROLL Joëlle (PU-PH)

SIMON Nicolas (PU-PH)

BOULAMERY Audrey (MCU-PH)



RANQUE Stéphane (PU-PH)

LE COZ Pierre (PR) (17ème section)

CASSAGNE Carole (MCU-PH)

MATHIEU Marion (MAST)

L'OLLIVIER Coralie (MCU-PH)

TOGA Isabelle (MCU-PH)

**PHYSIOLOGIE 4402****PEDIATRIE 5401**

ANDRE Nicolas (PU-PH)

BARTOLOMEI Fabrice (PU-PH)

CHAMBOST Hervé (PU-PH)

BREGEON Fabienne (PU-PH)

DUBUS Jean-Christophe (PU-PH)

GABORIT Bénédicte (PU-PH)

GIRAUD/CHABROL Brigitte (PU-PH)

MEYER/DUTOUR Anne (PU-PH)

MICHEL Gérard (PU-PH)

TREBUCHON/DA FONSECA Agnès (PU-PH)

MILH Mathieu (PU-PH)

BARTHELEMY Pierre (MCU-PH)

OVAERT-REGGIO Caroline (PU-PH)

BONINI Francesca (MCU-PH)

REYNAUD Rachel (PU-PH)

BOULLU/CIOCCA Sandrine (MCU-PH)

TSIMARATOS Michel (PU-PH)

DADOUN Frédéric (MCU-PH) (disponibilité)

DELLIAUX Stéphane (MCU-PH)

COZE Carole (MCU-PH)

RUEL Jérôme (MCF) (69ème section)

FABRE Alexandre (MCU-PH)

THIRION Sylvie (MCF) (66ème section)

TOSELLO Barthélémy (MCU-PH)

**PSYCHIATRIE D'ADULTES ; ADDICTOLOGIE 4903****PNEUMOLOGIE; ADDICTOLOGIE 5101**

BAILLY Daniel (PU-PH)

ASTOUL Philippe (PU-PH)

LANCON Christophe (PU-PH)

BARLESI Fabrice (PU-PH)

NAUDIN Jean (PU-PH)

CHANEZ Pascal (PU-PH)

CERMOLACCE Michel (MCU-PH)

GREILLIER Laurent (PU PH)

**PSYCHOLOGIE - PSYCHOLOGIE CLINIQUE, PCYCHOLOGIE SOCIALE 16**

REYNAUD/GAUBERT Martine (PU-PH)

AGHABABIAN Valérie (PR)

TOMASINI Pascale (MCU-PH)

**RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE 4302****RHUMATOLOGIE 5001**

BARTOLI Jean-Michel (PU-PH)

GUIS Sandrine (PU-PH)

CHAGNAUD Christophe (PU-PH)

LAFFORGUE Pierre (PU-PH)

CHAUMOITRE Kathia (PU-PH)

PHAM Thao (PU-PH)

GIRARD Nadine (PU-PH)

ROUDIER Jean (PU-PH)

JACQUIER Alexis (PU-PH)

MOULIN Guy (PU-PH)

PANUEL Michel (PU-PH)

PETIT Philippe (PU-PH)

VAROQUAUX Arthur Damien (PU-PH)

VIDAL Vincent (PU-PH)

**THERAPEUTIQUE; MEDECINE D'URGENCE; ADDICTOLOGIE 4804**

AMBROSI Pierre (PU-PH)

VILLANI Patrick (PU-PH)

STELLMANN Jan-Patrick (MCU-PH)

DAUMAS Aurélie (MCU-PH)

**REANIMATION MEDICALE ; MEDECINE URGENCE 4802****UROLOGIE 5204**

GAINNIER Marc (PU-PH)

BASTIDE Cyrille (PU-PH)

GERBEAUX Patrick (PU-PH)

KARSENTY Gilles (PU-PH)

PAPAZIAN Laurent (PU-PH)

LECHEVALLIER Eric (PU-PH)

ROCH Antoine (PU-PH)

ROSSI Dominique (PU-PH)

HRAIECH Samir (MCU-PH)

MAJ 01.09.2019



## **Remerciements aux membres du jury**

### **A Monsieur le Professeur Jean Roudier,**

Vous me faites l'honneur de présider le jury de cette thèse. Je vous remercie pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail, pour votre implication dans ce projet, votre enseignement, et la transmission de votre passion pour l'immunologie. Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect, ma sincère considération, et de ma gratitude.

### **A Madame le Docteur Nathalie Balandraud,**

Tu me fais l'honneur de m'avoir fait confiance et d'avoir dirigé ce travail de thèse. Je te remercie pour ton implication sans faille dans ce travail, ton soutien, tes encouragements, ton aide précieuse, tes grandes connaissances transmises sans modération, et pour la transmission de ta passion pour la science qui est chevillée à toi. Tu trouveras ici tout l'expression de ma reconnaissance, ma gratitude et mon profond respect.

### **A Monsieur le Professeur Pierre Lafforgue,**

Vous me faites l'honneur de siéger dans le jury de cette thèse. Je vous remercie de l'intérêt que vous portez à ce travail en acceptant de siéger dans le jury. Je vous remercie pour votre enseignement et votre pédagogie tout au long de mon internat. Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect et ma grande considération.

### **A Madame le Professeur Thao Pham,**

Vous me faites l'honneur de siéger dans le jury de cette thèse. Je vous remercie pour l'intérêt que vous portez à ce travail en acceptant de juger ma thèse. Je vous remercie pour votre engagement et votre confiance au cours de mon internat qui m'a permis d'obtenir le financement de mon master 2 d'immunologie et de m'impliquer dans mes premiers projets de recherche, pour votre pédagogie, et votre enseignement durant toutes ces années. Vous trouverez ici l'expression de ma gratitude, mon profond respect, et de toute ma reconnaissance.

### **A Monsieur le Docteur Frédéric Vély,**

Tu me fais l'honneur de siéger dans le jury de cette thèse. Je te remercie d'avoir accepté sans hésitation de participer au jury de ce travail d'immuno-rhumatologie. Je te remercie pour ces merveilleux mois passés au laboratoire de recherche, de ton accueil, de ta bonne humeur, ton enseignement de l'immunologie d'une grande pédagogie, ta passion pour la recherche transmise chaque jour, ton soutien et pour m'avoir permis de mettre mon premier pied dans le monde de la recherche en immunologie que je ne souhaite plus quitter désormais. J'espère pouvoir de nouveau travailler avec toi dans l'avenir. Tu trouveras ici l'expression de ma gratitude, mon profond respect, et ma sincère reconnaissance.

## Remerciements

**A Monsieur le Professeur Guy Serre, directeur de l'Unité "Différenciation Epithéliale et Autoimmunité Rhumatoïde" UMR 1056 Inserm - Université de Toulouse.** Je vous remercie d'avoir rendu possible ce travail. Je vous remercie de m'avoir accueilli quelques jours au sein de votre unité de recherche à Toulouse pour l'apprentissage des techniques de dosage des ACPA, et pour votre implication dans ce projet. Soyez assuré de ma grande considération et mon profond respect.

**A Monsieur le Professeur Eric Vivier, directeur du laboratoire « Innate lymphoid cells » au Centre d'Immunologie de Marseille Luminy.** Je vous remercie pour votre accueil au sein du laboratoire de recherche, pour votre soutien, pour votre confiance, et pour votre enseignement tout au long de ces mois passés au sein de votre équipe. J'espère avoir l'honneur et le plaisir de collaborer avec votre équipe dans l'avenir. Vous trouverez ici l'expression de ma profonde considération, mon profond respect et de ma gratitude.

**Aux membres de l'équipe de recherche du Professeur Serre** qui ont contribué à la réalisation de ce travail : Mikael Pancarte, Géraldine Offer, et Cyril Clavel.

**Aux membres du laboratoire INSERM « Arthrites auto-immunes » du Professeur Jean Roudier** qui ont contribué à la réalisation de ce travail : Madame le Docteur Isabelle Auger et Marielle Martin.

**A Christelle Piperoglou,** ingénieur du laboratoire du Professeur Vivier, pour son enseignement précis des techniques de laboratoire, et pour sa confiance.

**Aux membres du laboratoire de la Timone Enfant du Professeur Vivier** pour leur accueil et leur transmission de leur connaissance : Catherine, Clémence, Isabelle, Anaïs, Marie Laure, et Josiane.

**Aux médecins du Service de Rhumatologie-Médecine Interne du Centre Hospitalier d'Aix en Provence,** qui m'ont accompagné lors de mes premiers pas d'interne, je ne vous remercierais jamais assez : Laetitia, Valéry et Jean Luc.

**Aux médecins des services de Rhumatologie de l'hôpital Sainte Marguerite** pour leur accueil, leur disponibilité, et la transmission de leur savoir : Sophie, Marie-Caroline, Emmanuel, et Guillaume.

**Aux médecins chefs du service de Médecine Interne de l'HIA LAVERAN** qui m'ont accueilli avec bienveillance au sein de leur service, et pour la transmission de leur savoir : Messieurs les Docteurs Sylvain Molinier et Bernard Chaudier.

**Aux médecins du service de Médecine Interne et Immunologie Clinique de l'hôpital de la Conception** pour leur accueil, leur enseignement, et la transmission de leur savoir : Monsieur le Professeur Gilles Kaplanski, Madame le Docteur Karin

Mazodier, Messieurs les Docteurs Rodolphe Jean, Vincent Roumieu, et Pierre André Jarrot.

**A Madame le Professeur Françoise Debiais et Madame le Professeur Elisabeth GERVAIS** pour leur bienveillance et leur accueil au sein du service de rhumatologie du CHU de Poitiers. Je vous remercie de me faire l'honneur de me permettre d'occuper un poste de Chef de Clinique Assistant dans votre service à partir de novembre 2020.

**Aux médecins du service de Rhumatologie du Professeur Debiais** pour leur accueil, et la transmission de leurs connaissances : Géraldine, Rachel, Alexis, Lucie, et Justine.

**Au docteur Bernard Maurin**, mon médecin généraliste pendant mes 25 premières années. Je vous remercie de m'avoir donné l'envie de faire ce beau métier de médecin.

**Au docteur Christophe Bain**, mon maître de stage de médecine générale en cinquième année de médecine. Merci pour m'avoir accueilli au cabinet et m'avoir appris les bases de la médecine générale, cette si belle et difficile spécialité.

**Aux docteurs Benoit Thomachot et Laurent Heyries**

**A mes co-internes du service de Rhumatologie d'Aix en Provence** : Romain et Léa

**A mes co-internes du service de Neurologie du Professeur Pelletier**, que de bons souvenirs, de fous rires, et surtout de belles amitiés depuis : Sébastien B., Sébastien V, Sébastien S., Matthieu, et Marie

**A mes co-internes de rhumatologie dans le service du Professeur Lafforgue** (également tous présents dans le service de neurologie d'ailleurs) : Loukianos, Antoine, et Sonia

**A mes co-internes de rhumatologie dans le service du Professeur Roudier** : Lucas (dire que je t'ai connu externe et que finalement tu auras passé ta thèse avant moi), et Victor

**A mes binômes de TD au cours de l'année de master 2** : Louise, Pierre Louis, et Clémence

**A mes co-internes du « semestre » de 7 mois de médecine interne dans le service du Professeur KAPLANSKI** : Jean Baptiste, Marie D., Marie K., Alice, et Anaëlle.

**A mes co-internes du « semestre » de 5 mois dans le service de Rhumatologie du Professeur DEBIAIS au CHU de Poitiers** : Armelle, Benjamin, Elisabeth, Arnaud, Gwendolen, Manon, et Estelle.

**A mes co-internes de Rhumatologie que j'ai croisé au cours de toutes ces années :** Martin, Damien (que j'ai également connu comme externe et qui aura aussi passé sa thèse avant moi), Douglas, Emilie, Julie, Caroline, Thomas, Clothilde, Lisa, Justin

**Aux amis rencontrés au cours des études de médecine ou avant :** Alexandra, Félix, Kim, Hugo, Adeline, Manon, Marylise, Jonas, Florian, Thierry, Stéphane

**A mes amis rencontrés pendant les cours de danse :** Carole, Yvan, Coralie, Caroline, Sarah, Fanny, Audrey.

**A Mathieu Bernard,** mon enseignant de golf qui m'a permis de découvrir et apprécier ce si beau sport qui m'a permis de m'aérer l'esprit et de ne pas craquer quand j'en avais tant besoin.

**A Anne Marie,** qui a suivi mes études m'a soutenu depuis le début.

**A ma belle-mère et mon beau père** pour m'avoir accueilli. Merci également pour ce séjour à Madagascar pendant cette drôle de période.

**A ceux que j'aurais omis de citer,** je m'en excuse, et je vous remercie évidemment aussi. Je ne vous oublie pas.

**Impossible de terminer ces remerciements sans parler d'eux :**

**A ma famille :** Maman, Mamie, David, Tonton, Tatie, Alexandre. Votre soutien et votre amour m'ont permis de tenir toutes ces années. Merci d'être là pour moi dans les bons comme les moins bons moments, de me soutenir, de m'encourager, de m'aider à surmonter les obstacles quand ils se présentent, et de vaincre mes doutes parfois si forts. Sans vous, je ne suis rien. Je vous aime. A mon regretté grand-père que je n'oublie jamais, j'espère que tu aurais été fier de moi et de mon parcours. Je t'aime.

**A Maeva,** toi qui illumine ma vie depuis ce soir du 29 décembre 2016 à l'Opéra devant la Chauve-Souris de Johann Strauss II. Tu es la plus merveilleuse, la plus belle, et la plus extraordinaire des femmes. Je suis si chanceux et si heureux que nous nous soyons rencontrés. Merci pour ton soutien sans faille, tes encouragements, ton amour, ta présence à mes côtés. Merci de me supporter. Toute une vie de bonheur ensemble nous attend. Tu es la femme de ma vie. Maeva, Je t'aime.

## Introduction

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est le rhumatisme inflammatoire chronique auto-immun le plus sévère. Sa prévalence est comprise entre 0,5 et 1,1% en Amérique du Nord et en Europe du Nord, et entre 0,3 et 0,7% en Europe du Sud [1].

La PR se présente comme une polyarthrite bilatérale et symétrique des petites articulations. Des manifestations extra-articulaires telles que les nodules rhumatoïdes, une atteinte pulmonaire, ou encore une vascularite peuvent aussi être présentes [2].

La PR est précédée par l'apparition d'anticorps anti protéines citrullinées (ACPAs). La citrulline est un acide aminé neutre résultat d'une modification post-traductionnelle d'une arginine par des enzymes appelées Peptidyl Arginine Déiminases (PADs).

Dans la PR ACPA-positif, le risque génétique est principalement porté par les molécules HLA-DR porteuses de l'épitope partagé (EP) encodées dans la région du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). L'EP (un motif de cinq acides aminés compris entre les positions 70 et 74 de la chaîne HLA-DRB1) est présent chez approximativement 70% des patients atteints d'une PR ACPA-positif [3,4]. Les différentes combinaisons d'allèles HLA-DR (génotypes) confèrent des risques relatifs différents de développer une PR ACPA-positif, les plus hauts risques correspondant aux génotypes encodant deux copies de l'épitope partagé [5].

Les ACPA présents chez les patients atteints de PR reconnaissent des épitopes citrullinés sur de nombreuses protéines [6]. Un antigène citrulliné majeur exprimé dans les articulations des patients atteints de PR est le fibrinogène, dont les chaînes alpha et bêta sont toutes deux reconnues par les ACPA [7]. Les ACPA sont susceptibles de jouer un rôle dans la physiopathologie de la maladie [8].

La découverte des ACPA a conduit au développement de tests diagnostiques basés sur des peptides citrullinés cyclisés synthétiques (CCP) [9]. Depuis, différentes générations de tests anti-CCP ont été commercialisés [10]. Compte tenu de leur importance, les ACPA ont été intégrés dans les critères de classification ACR/EULAR 2010 de la PR [11].



Outre les tests anti-CCP, la recherche d'anticorps anti-fibrinogène humain citrulliné (AhFibA) peut être utilisée pour le diagnostic sérologique des PR débutantes [12].

Cinq peptides issus du fibrinogène citrulliné (Fib-cit) portent la quasi-intégralité des épitopes reconnus par les sérums des patients atteints de PR ACPA-positives. Ces épitopes immunodominants sont portés par les peptides  $\beta$ 60–74cit,  $\alpha$ 36–50cit,  $\alpha$ 621–635cit,  $\alpha$ 501–515cit et  $\alpha$ 171–185cit [7,13,14].

La majorité des études publiées analysent la reconnaissance de 3 ( $\beta$ 60–74cit,  $\alpha$ 36–50cit, et  $\alpha$ 621–635cit) parmi les 5 épitopes majeurs et étudient des PR récentes définies par les critères ACR de 1987 [15] et non les critères ACR/EULAR de 2010.

L'objectif primaire de ce travail était d'étudier si, dans une cohorte de 184 patients atteints de PR ACPA-positives répondant aux critères ACR/EULAR 2010, un terrain génétique HLA-DR particulier ou des caractéristiques cliniques particulières étaient associées avec la présence d'anticorps dirigés contre les épitopes des 5 peptides majeurs du Fib-cit  $\beta$ 60–74cit,  $\alpha$ 36–50cit,  $\alpha$ 621–635cit,  $\alpha$ 501–515cit et  $\alpha$ 171–185cit.

# Matériels et méthodes

## Patients

Nous avons réalisé une étude prospective sur 184 patients suivis dans le service de rhumatologie de l'hôpital Sainte Marguerite à Marseille. Les patients inclus étaient considérés comme atteints de PR-ACPA positive sur la base de résultats de tests anti-CCP2 obtenus antérieurement avec des tests commerciaux divers et remplissaient les critères ACR/EULAR 2010. Les patients traités par rituximab ont été exclus de l'étude compte tenu de son effet potentiel sur les taux d'ACPA.

Les caractéristiques des patients suivantes ont été collectées dans leurs dossiers médicaux : présence de nodules rhumatoïdes, tabagisme, âge au diagnostic, génotype HLA-DR, présence de facteurs rhumatoïdes, activité de la maladie et caractère érosif de la maladie.

- L'activité de la maladie a été évaluée par le Disease Activity Score calculé avec la valeur de la protéine C réactive (DAS28-CRP) le jour du prélèvement.
- La réponse au traitement a été évaluée en accord avec les critères de réponse au traitement de l'EULAR. Les patients étaient considérés comme ayant une bonne réponse si leur DAS28 était  $\leq 3.2$  et avait décru de  $> 1.2$  [16]. En accord avec la mise à jour de 2019 des recommandations de traitements de la polyarthrite rhumatoïde de l'EULAR, le temps maximal pour atteindre la cible du traitement a été fixé à 6 mois avant de conclure à un échec du traitement [17].
- Les antécédents personnels d'accident vasculaire cérébral non fatal, d'infarctus du myocarde ou d'insuffisance cardiaque ont été définis comme événement cardiovasculaire majeur.
- Les patients étaient classés comme fumeurs (actifs ou sevrés) et non-fumeurs.
- L'atteinte pulmonaire a été diagnostiquée par les médecins radiologues à partir des scanners pulmonaires des patients. Il est à noter que seuls quelques patients avaient bénéficié d'un scanner thoracique.
- Le caractère érosif de la PR était défini selon la définition EULAR d'une PR érosive [18].

- Le syndrome sec oculaire était défini par un test de Schirmer < 5 mm/5 min, ou un Ocular Staining Score > 5. La sécheresse buccale était définie par un flux salivaire non stimulé < 0,1 mL/min.
- L'ostéoporose était définie soit par un antécédent personnel de fracture ostéoporotique, ou par une mesure de densité minérale osseuse avec un T-score inférieur à – 2.5 sur au moins un des deux sites.

## **Echantillons**

Un prélèvement sanguin unique a été réalisé chez les patients à partir duquel le plasma a été isolé. Les échantillons ont été stockés à -80°C. Les tests AhFibA et de fine spécificité des ACPA contre les peptides du fibrinogène ont été analysés et les anti-CCP2 ont été ré-analysés avec un même test chez l'ensemble des patients.

## **Ethique**

Tous les patients ont donné leur consentement écrit pour cette étude. Les données des patients ont été pseudo-anonymisées. La collection d'échantillons a été approuvée par le comité d'éthique sous le numéro DC-2008-327. Cette étude a été déclarée à l'Assistance Publique – Hôpitaux de Marseille (AP-HM) sous le numéro PADS19-332.

## **Dosage des ACPA et des Facteurs rhumatoïdes**

Pour l'ensemble des tests d'ACPA, nous avons utilisé un seuil de positivité (N) correspondant à une spécificité diagnostique à 95%.

**Les dosages anti-CCP2** ont été réalisés en utilisant le kit ELISA CCPlus® IMMUNOSCAN (Euro Diagnostica, Arnhem, Pays Bas) selon les recommandations du fabricant. Les titres d'anticorps exprimés en unités arbitraires (AU/mL) ont été considérés comme positifs au-delà de 25 AU/mL.

**Les auto-anticorps IgG anti-fibrinogène humain citrulliné** ont été détectés par un test ELISA précédemment décrit (AhFibA). Les titres d'anticorps au-delà de 0,056 ont été considérés positifs [7,19].

**Les dosages de facteurs rhumatoïdes (FR) IgM** ont été analysés par le kit ELISA Facteur Rhumatoïde IgM (ORGENTEC, Mainz, Allemagne) et considérés comme positifs au-delà de 20 UI/mL.

### **Dosage des anticorps dirigés contre les peptides du Fib-cit**

Les peptides dont les séquences sont citées ci-après ont été synthétisés avec soit des arginines (R) pour les peptides contrôles soit des citrullines (R) dans les peptides cibles, et utilisés dans les tests d'ELISA :

- $\beta$ 60–74: RPAPPPISGGGYRAR
- $\alpha$ 36–50: GPRVVERHQSACKDS
- $\alpha$ 621–635: RGHAKSRPVRGIHTS
- $\alpha$ 501–515: biotine-ahx\*-SGIGTLDGFRHRHPD
- $\alpha$ 171–185: biotine-ahx\*-VDIDIKIRSCRGSCS

\*: ahx : acide amino-hexanoïque

Les auto-anticorps IgG dirigés contre les peptides citrullinés dérivés du fibrinogène  $\beta$ 60–74cit,  $\alpha$ 36–50cit, et  $\alpha$ 621–635cit ont été testés par ELISA selon une méthode décrite précédemment où les peptides sont adsorbés passivement sur des plaques de microtitration [7,19]. Les auto-anticorps IgG dirigés contre les peptides  $\alpha$ 501–515cit et  $\alpha$ 171–185cit ont été testés par ELISA avec des peptides biotinylés fixés sur de l'avidine. Brièvement, les plaques (Maxisorp; NUNC, VWR International, Fontenay-sous-Bois, France) ont été incubées durant la nuit avec de l'Avidine à 5  $\mu$ g/mL. Après lavage avec du PBS 0,1% Tween-20 (PBS-T), les peptides biotinylés ont été incubés 1 heure à 1  $\mu$ g/mL dans du PBS 2% BSA (PBS-BSA). Après 3 lavages, les plaques ont été incubées pendant une heure avec le plasma des patients dilué au 1/100 dans du PBS-BSA et lavées 3 fois avec du PBS-T. Un anticorps de chèvre anti-IgG humaine conjugué à de la peroxydase (Southern Biotechnology) dilué au 1/2500 dans du PBS-BDA a été incubé pendant 1 h et, après 3 lavages, la réactivité a été révélée par de l'ortho-phenylenediamine dihydrochloride et du peroxyde d'hydrogène dans un tampon citraté à pH 5. La réaction a été stoppée par de l' $H_2SO_4$  après 5 min et la densité optique (DO) a été lue à 492 nm. Toutes les étapes ont été réalisées à température ambiante d'environ 20°C [7]. La réactivité anticorps spécifique a été définie par la différence de DO entre les peptides

citrullinés et contrôles non citrullinés. Les variations inter-manipulations ont été corrigées par une analyse par régression linéaire en utilisant un peptide et un plasma de référence testés sur chaque plaque. Les  $\Delta OD$  inférieures à la valeur seuil de 0,25 étaient considérées comme négatives. Les patients avec une  $\Delta OD$  supérieure à la valeur seuil étaient divisés en 3 groupes égaux avec des titres faibles, moyens, ou élevés. Les patients des groupes titres moyens et élevés étaient considérés ensemble comme ayant un haut niveau de réactivité.

## **Analyse statistique**

Les études d'association ont été réalisées grâce à des tables de contingence en utilisant le test du Chi2 et le test exact de Fisher quand le test Chi2 n'était pas utilisable. Le test de Pearson a été utilisé pour déterminer la significativité des corrélations de titres entre anti-CCP2, AhFibA, et anticorps dirigés contre les peptides.

Les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le logiciel PRISM pour Windows (GraphPad Software, San Diego, Californie, USA). Le seuil de significativité était fixé à  $p \leq 0,05$ . Nous avons considérés que les valeurs  $p \leq 0,09$  représentaient une tendance vers la significativité compte tenu du faible effectif de notre cohorte.

## Résultats

### Description clinique de la population (Tableau 1)

Les caractéristiques cliniques des 184 patients atteints de PR ACPA-positives sont montrées dans le tableau 1.

### Profil sérologique des 184 patients atteints PR ACPA-positives (Tableau 2, Figure 1)

Les caractéristiques biologiques des 184 patients atteints de PR ACPA-positives recrutés sont montrées dans le tableau 2. Après ré-analyse avec un même test de référence, 98,51% des patients étaient porteurs d'anticorps anti-CCP2. Par ailleurs, 83,23% étaient positifs au test AhFibA, et 69,98% avaient des FR IgM.

- **Parmi les peptides du Fib-cit,**
  - 76,13% des patients reconnaissent le peptide biotine- $\alpha$ 171–185cit.
  - 67,10% reconnaissent le peptide biotine- $\alpha$ 501–515cit.
  - 58,06 % reconnaissent le peptide  $\beta$ 60–74cit.
  - 45,16% reconnaissent le peptide  $\alpha$ 621–635cit.
  - 14,84% reconnaissent le peptide  $\alpha$ 36–50cit.
- **Profil de reconnaissance épitopique des ACPA chez 20 patients tirés au hasard (Figure 1)**

Une analyse des profils de reconnaissance des épitopes par les ACPA a été réalisée chez 20 patients tirés au sort et met en évidence que :

- 19% des patients reconnaissent les 4 peptides  $\beta$ 60–74cit,  $\alpha$ 501–515cit,  $\alpha$ 621–635cit, et  $\alpha$ 171–185cit.
- 15% des patients reconnaissent les 3 peptides  $\beta$ 60–74cit,  $\alpha$ 501–515cit, et  $\alpha$ 171–185cit.
- 4% des patients seulement reconnaissent  $\alpha$ 171-185cit.

### Corrélations entre les titres des anti-CCP2 et des anticorps anti peptides du Fib-cit (Figure 2)

Les titres d'anti-CCP2 et AhFibA sont fortement corrélés ( $r_s$ : 0,7037;  $p = 5,69 \times 10^{-29}$  Pearson)

Les titres d'anti-CCP2 et des anticorps anti-peptides du Fib-cit sont fortement corrélés pour 4 des 5 peptides:

- $\beta 60-74\text{cit}$  ( $r_s$ : 0,5162;  $p = 5,43 \times 10^{-14}$ , Pearson)
- $\alpha 621-635\text{cit}$  ( $r_s$ : 0,2703;  $p = 0,0002$ , Pearson)
- $\alpha 501-515\text{cit}$  ( $r_s$ : 0,2979;  $p = 3,82 \times 10^{-5}$ , Pearson)
- $\alpha 171-185\text{cit}$  ( $r_s$ : 0,6473 ;  $p = 2,41 \times 10^{-23}$ , Pearson)

En revanche, il n'y a pas de corrélation des titres d'anti-CCP2 et des anticorps anti- $\alpha 36-50\text{cit}$  ( $r_s$ : 0,0078;  $p = 0,916$ , Pearson).

## **Terrain génétique HLA-DRB1**

Parmi les 184 patients atteints de PR ACPA-positive, 155 ont été génotypés pour HLA-DRB1.

Leurs caractéristiques cliniques n'étaient pas différentes de celles de l'ensemble des 184 patients (voir Tableaux supplémentaires 1 et 2).

67,1% des patients étaient porteurs de l'EP (49% des patients exprimaient une copie de l'EP et 18,1% en exprimaient deux copies).

## **Statut HLA-DR et caractéristiques cliniques**

44/155 patients expriment HLA-DRB1\*0401 parmi lesquels 11 ont des nodules rhumatoïdes, 111/155 patients n'expriment pas HLA-DRB1\*0401 parmi lesquels 19 ont des nodules rhumatoïdes ( $\text{Chi}^2$ , OR = 2,15 [0,91 – 5,25];  $p = 0,081$ ). Ainsi, HLA-DRB1\*04:01 est associé à la présence de nodules rhumatoïdes. Les autres caractéristiques cliniques n'étaient associées à aucun allèle HLA-DRB1.

## **HLA-DRB1 et reconnaissance des peptides du Fib-cit (Tableau 3)**

### **1/ Effet dose de l'EP sur le nombre de peptides du Fib-cit reconnus**

Les patients porteurs de deux copies de l'EP reconnaissent plus de 3 peptides du Fib-cit (OR = 3,02 [1,12 – 8,74];  $p = 0,034$ ).

### **2/ Allèles HLA-DRB1 et spécificité épitopiques envers les peptides du Fib-cit**

HLA-DRB1\*0401 était associé à la présence d'anticorps dirigés contre  $\alpha 501-515\text{cit}$  (OR = 5,52 [2,00 – 13,64];  $p=0,0003$ ), ainsi qu'avec l'absence d'anticorps dirigés contre  $\alpha 621-625\text{cit}$  (OR=0,46 [0,23 – 0,95];  $p=0,036$ ).



## **Spécificité épitopique des anticorps dirigés contre les peptides du Fib-cit et caractéristiques cliniques (Tableau 4 et Tableau supplémentaire 3)**

### **1/ Reconnaissance de multiples peptides**

42 des 184 patients reconnaissent plus de 3 peptides du Fib-cit. Les 142 patients restants reconnaissent 3 peptides du Fib-cit ou moins. Les patients qui reconnaissent plus de 3 peptides du Fib-cit présentent une meilleure réponse aux anti-TNF-alpha (OR = 2,93 [1,16 – 7,48]; p = 0,025) et ont une PR non érosive (OR = 0,45 [0,19 – 1,04]; p = 0,051).

### **2/ La reconnaissance des épitopes portés par le peptide $\alpha$ 501–515cit est associée à la présence de FR et de nodules rhumatoïdes (Tableau 4)**

30/180 patients ont des nodules rhumatoïdes et 130 n'en ont pas. Les données sont manquantes pour 20 patients.

- Une réactivité envers  $\alpha$ 501–515cit présente une tendance à une association avec les nodules rhumatoïdes (OR= 2,32 [0,95 – 5,80], p = 0,08).
- Un haut niveau de réactivité envers  $\alpha$ 501–515cit est associé avec la présence de nodules rhumatoïdes. 79/184 patients ont un haut niveau de réactivité envers  $\alpha$ 501–515cit parmi lesquels 18 patients ont des nodules rhumatoïdes. 61/184 patients n'avaient pas de haut niveau de réactivité envers  $\alpha$ 501–515cit parmi lesquels seulement 6 patients ont des nodules rhumatoïdes (OR=2,71 [1,00 – 7,16], p= 0,044).
- Les anticorps anti- $\alpha$ 501–515cit sont associés avec la présence de FR (OR=2,31 [1,10 – 4,78], p= 0,026).

## Discussion

Nous avons étudié les associations entre le terrain génétique HLA-DR, les spécificités des ACPA pour des épitopes portés par le fibrinogène citrulliné, et les caractéristiques cliniques de 184 patients atteints de PR ACPA-positifs remplissant les critères ACR-EULAR 2010.

Les caractéristiques cliniques et biologiques de la population atteinte de PR étudiée étaient classiques [5].

L'analyse des spécificités épitopiques des ACPA dans nos 184 plasmas montrent en partie des différences avec celles décrites dans les études pilotes, en particulier pour le peptide  $\alpha$ 36-50cit, ainsi que pour les peptides  $\alpha$ 501-515cit et  $\alpha$ 171-185cit qui furent utilisés biotinylés dans la présente étude :

- 58% ont des anticorps anti- $\beta$ 60-74cit versus 70% des patients dans les études pilotes.
- 15% ont des anticorps anti- $\alpha$ 36-50cit versus 60% des patients dans les études pilotes.
- 45% ont des anticorps anti- $\alpha$ 621-635cit versus 50% des patients dans les études pilotes.
- 67% ont des anticorps anti- $\alpha$ 501-515cit versus 45% des patients dans les études pilotes.
- 76% ont des anticorps anti- $\alpha$ 171-185cit versus 45 % des patients dans les études pilotes.

Pour les deux peptides  $\alpha$ 501-515cit et  $\alpha$ 171-185cit, la différence résulte de la différence de sensibilité des tests ELISA utilisés. En effet, dans les études pilotes [7], les peptides étaient adsorbés sur des plaques de polystyrène alors que dans cette étude, les peptides sous une forme biotinylée ont été liés à de l'avidine adsorbée sur les plaques d'ELISA. Un tel accroissement de la sensibilité des dosages est bien connue et a déjà été démontrée pour les peptides citrullinés [20].

**Dans un premier temps, nous avons analysé les associations entre des spécificités épitopiques multiples et les caractéristiques cliniques.**

**La reconnaissance de multiples peptides (> 3) n'étaient pas associées à la présence d'une PR érosive** alors que les données publiées montrent une association entre la présence d'érosions et de hauts niveaux d'ACPA [21,22].

**La reconnaissance de multiples peptides (> 3) était associée à une meilleure réponse aux anti-TNF-alpha.** Sur ce point, les données de la littérature sont contradictoires. En effet, la présence d'ACPA a été décrite comme associée à la fois à une moins bonne réponse [23], comme sans influence sur la réponse [24], ou bien encore comme associée à une meilleure réponse [25]. Cette meilleure réponse aux anti-TNF-alpha observée chez nos patients reconnaissant de multiples peptides pourraient expliquer la prédominance de PR non érosives. En effet, les traitements anti-TNF-alpha ont été décrits comme limitant la progression radiographique des patients atteints de PR [26].

**En ce qui concerne les lésions pulmonaires, celles-ci ne furent pas étudiées** compte tenu du nombre limité de patients ayant bénéficié d'une tomodensitométrie thoracique dans cette étude, rendant cette analyse trop peu robuste.

**Par la suite, nous avons analysés les associations entre les reconnaissances des peptides du Fib-cit, le terrain génétique HLA, et les caractéristiques cliniques des patients.**

**Nous avons trouvé que :**

**1/ HLA-DRB1\*0401 était associé à la présence d'anticorps anti- $\alpha$ 501–515cit.**

**2/ Les nodules rhumatoïdes sont associés à HLA-DRB1\*0401.**

**3/ Un haut niveau de réactivité envers  $\alpha$ 501–515cit était associé à la présence de nodules rhumatoïdes et de facteurs rhumatoïdes.**

**1/ HLA-DRB1\*0401 était associé à la présence d'anticorps anti- $\alpha$ 501–515cit.**

En effet, 44/155 patients exprimaient HLA-DRB1\*0401 parmi lesquels 76 avaient des anticorps anti- $\alpha$ 501-515cit, et 111/155 patients n'exprimaient pas HLA-DRB1\*0401 parmi lesquels 65 avaient des anticorps anti- $\alpha$ 501-515cit (OR = 5,52 [2,00-13,64] ; p = 0,0003) (Tableau 3).

Lorsque l'on s'intéresse au développement d'une réponse anticorps IgG, les molécules HLA-DR interviennent dans la présentation antigénique de peptides à des lymphocytes T follicular helper (Tfh) qui apportent un signal d'aide aux lymphocytes B présentant une IgM de surface de spécificité donnée. Or, la spécificité de la réponse anticorps est basée sur la spécificité de l'IgM de surface de la cellule B, et non pas au peptide antigénique présenté par HLA-DR.

Ainsi, l'association d'HLA-DRB1\*0401 avec la présence d'anticorps anti- $\alpha$ 501-515cit n'indiquent pas que cet allèle associé à la PR est capable de choisir entre différents épitopes B. En revanche, cela suggère que la présence d'HLA-DRB1\*0401 pourrait contribuer à apporter un signal d'aide aux cellules B spécifiques du peptide  $\alpha$ 501-515cit du Fib-cit que les autres allèles HLA-DRB1 ne peuvent fournir.

Ceci suggère donc une efficacité toute particulière d'HLA-DRB1\*0401 en tant que présentateur de peptide apprêté ce qui permet en retour le développement d'une réponse Tfh plus efficace. Dans ce contexte, il est intéressant de noter que les molécules HLA-DR encodées par HLA-DRB1\*0401 ont été démontrées comme suivant un raccourci du réticulum endoplasmique aux lysosomes permettant une association avec des peptides antigéniques mieux apprêtés [27,28].

## **2/ Les nodules rhumatoïdes sont associés à HLA-DRB1\*0401.**

En effet, 44/155 patients expriment HLA-DRB1\*0401 parmi lesquels 11 ont des nodules rhumatoïdes, et 111/155 patients n'expriment pas HLA-DRB1\*0401 parmi lesquels 19 ont des nodules rhumatoïdes (OR = 2,15 [0,91 – 5,25] ; p = 0,081).

L'association d'HLA-DRB1\*0401 avec la présence de nodules rhumatoïdes est bien connue et classique [22,29].

## **3/ Un haut niveau de réactivité envers $\alpha$ 501–515cit était associé à la présence de nodules rhumatoïdes et de facteurs rhumatoïdes.**

En effet, 79/184 patients ont un haut niveau de réactivité envers  $\alpha$ 501–515cit, parmi lesquels 18 patients ont des nodules rhumatoïdes, et 61/184 patients n'ont pas de haut niveau de réactivité envers  $\alpha$ 501–515cit, parmi lesquels 6 patients ont des nodules rhumatoïdes (OR=2,71 [1,00 – 7,16], p= 0,044). D'autre part, la présence d'anticorps anti- $\alpha$ 501–515cit est également associée à la présence de facteurs rhumatoïdes (OR=2,31 [1,10 – 4,78], p= 0,026).

Il est intéressant de noter que l'analyse histologique des nodules rhumatoïdes démontre que leur centre nécrotique contient du fibrinogène ainsi que des IgG. Il a également été mis en évidence la présence au sein de ces centres nécrotiques de protéines citrullinées mais également d'IgM [30,31]. A la lumière de ces éléments immuno-histologiques, nos données suggèrent que les anticorps anti- $\alpha$ 501–515cit formeraient des complexes immuns avec le Fib-cit et les facteurs rhumatoïdes, et ainsi être à l'origine des nodules rhumatoïdes.

En conclusion, nous avons analysé les spécificités épitopiques des ACPA en utilisant les cinq peptides majeurs du fibrinogène citrulliné et recherché si elles étaient associées avec des caractéristiques cliniques, biologiques, ou génétiques particulières. Notre principale découverte est l'association de la présence d'anticorps dirigés contre des épitopes portés par le peptide citrulliné  $\alpha$ 501–515 présent sur la chaîne alpha du fibrinogène avec HLA-DRB1\*0401 ainsi qu'avec la présence de nodules rhumatoïdes. Cette spécificité épitopique inattendue des ACPA chez les patients porteurs de l'allèle HLA-DRB1\*0401 pourrait être liée au trajet intra-cellulaire original d'HLA-DRB1\*0401. L'association des anticorps anti- $\alpha$ 501–515cit avec les nodules rhumatoïdes suggérerait que les anticorps anti- $\alpha$ 501–515cit contribueraient particulièrement à la formation des complexes immuns à l'origine des nodules rhumatoïdes.

## Références

- 1 Alamanos Y, Drosos A. Epidemiology of adult rheumatoid arthritis. *Autoimmunity Reviews* 2005;**4**:130–6. doi:10.1016/j.autrev.2004.09.002
- 2 Smolen JS, Aletaha D, McInnes IB. Rheumatoid arthritis. *The Lancet* 2016;**388**:2023–38. doi:10.1016/S0140-6736(16)30173-8
- 3 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. doi:10.1002/art.1780301102
- 4 de Almeida DE, Ling S, Holoshitz J. New insights into the functional role of the rheumatoid arthritis shared epitope. *FEBS Letters* 2011;**585**:3619–26. doi:10.1016/j.febslet.2011.03.035
- 5 Balandraud N, Picard C, Reviron D, *et al.* HLA-DRB1 Genotypes and the Risk of Developing Anti Citrullinated Protein Antibody (ACPA) Positive Rheumatoid Arthritis. *PLoS ONE* 2013;**8**:e64108. doi:10.1371/journal.pone.0064108
- 6 Schellekens GA, de Jong BA, van den Hoogen FH, *et al.* Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1998;**101**:273–81. doi:10.1172/JCI1316
- 7 Sebbag M, Moinard N, Auger I, *et al.* Epitopes of human fibrin recognized by the rheumatoid arthritis-specific autoantibodies to citrullinated proteins. *Eur J Immunol* 2006;**36**:2250–63. doi:10.1002/eji.200535790
- 8 England BR, Thiele GM, Mikuls TR. Anticitrullinated protein antibodies: origin and role in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. 2017. doi:info:doi/10.1097/BOR.0000000000000356
- 9 Schellekens GA, Visser H, Hazes JMW, *et al.* The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. ;:9.
- 10 Ji M, Hur M, Moon H-W, *et al.* Comparison of second- and third-generation immunoassays for detection of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* 2018;**78**:477–82. doi:10.1080/00365513.2018.1499957
- 11 Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, *et al.* 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis & Rheumatism* 2010;**62**:2569–81. doi:10.1002/art.27584
- 12 Nogueira L, Sebbag M, Chapuy-Regaud S, *et al.* Autoantibodies to deiminated fibrinogen are the most efficient serological criterion for the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Research*;4:38.
- 13 Nogueira L, Cornillet M, Singwe-Ngandeu M, *et al.* In Black Africans with rheumatoid arthritis, ACPA recognize citrullinated fibrinogen and the derived

- peptides  $\alpha$ 36-50Cit38,42 and  $\beta$ 60-74Cit60,72,74, like in Caucasians. *Clinical Immunology* 2014;**152**:58–64. doi:10.1016/j.clim.2014.02.011
- 14 Iobagiu C, Magyar A, Nogueira L, *et al.* The antigen specificity of the rheumatoid arthritis-associated ACPA directed to citrullinated fibrin is very closely restricted. *Journal of Autoimmunity* 2011;**37**:263–72. doi:10.1016/j.jaut.2011.07.003
  - 15 Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, *et al.* The american rheumatism association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism* 1988;**31**:315–24. doi:10.1002/art.1780310302
  - 16 van Gestel AM, Haagsma CJ, van Riel PL. Validation of rheumatoid arthritis improvement criteria that include simplified joint counts. *Arthritis and Rheumatism* 1998;**41**:1845–50. doi:10.1002/1529-0131(199810)41:10<1845::AID-ART17>3.0.CO;2-K
  - 17 Smolen JS, Landewé RBM, Bijlsma JWJ, *et al.* EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2019 update. *Ann Rheum Dis* 2020;:annrheumdis-2019-216655. doi:10.1136/annrheumdis-2019-216655
  - 18 van der Heijde D, van der Helm-van Mil AHM, Aletaha D, *et al.* EULAR definition of erosive disease in light of the 2010 ACR/EULAR rheumatoid arthritis classification criteria. *Ann Rheum Dis* 2013;**72**:479–81. doi:10.1136/annrheumdis-2012-202779
  - 19 Chapuy-Regaud S, Nogueira L, Clavel C, *et al.* IgG subclass distribution of the rheumatoid arthritis-specific autoantibodies to citrullinated fibrin. *Clinical & Experimental Immunology* 2005;**139**:542–50. doi:10.1111/j.1365-2249.2004.02708.x
  - 20 Cornillet M, Babos F, Magyar A, *et al.* Seropositivity and Antibody Profiling of Patients Are Dramatically Impacted by the Features of Peptides Used as Immunosorbents: A Lesson from Anti-Citrullinated Protein/Peptide Antibody. *Jl* 2018;**201**:3211–7. doi:10.4049/jimmunol.1800330
  - 21 Joo YB, Park Y-J, Park K-S, *et al.* Association of cumulative anti-cyclic citrullinated protein antibodies with radiographic progression in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2019;**38**:2423–32. doi:10.1007/s10067-019-04554-w
  - 22 Scherer HU, van der Woude D, Willemze A, *et al.* Distinct ACPA fine specificities, formed under the influence of HLA shared epitope alleles, have no effect on radiographic joint damage in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2011;**70**:1461–4. doi:10.1136/ard.2010.146506
  - 23 Potter C, Hyrich KL, Tracey A, *et al.* Association of rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptide positivity, but not carriage of shared epitope or *PTPN22* susceptibility variants, with anti-tumour necrosis factor response in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2009;**68**:69–74. doi:10.1136/ard.2007.084715



- 24 Lv Q, Yin Y, Li X, *et al.* The Status of Rheumatoid Factor and Anti-Cyclic Citrullinated Peptide Antibody Are Not Associated with the Effect of Anti-TNF $\alpha$  Agent Treatment in Patients with Rheumatoid Arthritis: A Meta-Analysis. *PLoS ONE* 2014;**9**:e89442. doi:10.1371/journal.pone.0089442
- 25 Sokolove J, Schiff M, Fleischmann R, *et al.* Impact of baseline anti-cyclic citrullinated peptide-2 antibody concentration on efficacy outcomes following treatment with subcutaneous abatacept or adalimumab: 2-year results from the AMPLE trial. *Ann Rheum Dis* 2016;**75**:709–14. doi:10.1136/annrheumdis-2015-207942
- 26 Murray E, Ellis A, Butylkova Y, *et al.* Systematic review and network meta-analysis: effect of biologics on radiographic progression in rheumatoid arthritis. *Journal of Comparative Effectiveness Research* 2018;**7**:959–74. doi:10.2217/ce-2017-0106
- 27 Auger I, Toussiot E, Roudier J. Molecular mechanisms involved in the association of HLA-DR4 and rheumatoid arthritis. *Immunol Res* 1997;**16**:121–6. doi:10.1007/BF02786328
- 28 Roth S, Willcox N, Rzepka R, *et al.* Major Differences in Antigen-Processing Correlate with a Single Arg<sup>71</sup>  $\leftrightarrow$ Lys Substitution in HLA-DR Molecules Predisposing to Rheumatoid Arthritis and with Their Selective Interactions with 70-kDa Heat Shock Protein Chaperones. *J Immunol* 2002;**169**:3015–20. doi:10.4049/jimmunol.169.6.3015
- 29 Weyand CM, Xie C, Goronzy JJ. Homozygosity for the HLA-DRB1 allele selects for extraarticular manifestations in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 1992;**89**:2033–9. doi:10.1172/JCI115814
- 30 Turunen S, Huhtakangas J, Nousiainen T, *et al.* Rheumatoid arthritis antigens homocitrulline and citrulline are generated by local myeloperoxidase and peptidyl arginine deiminases 2, 3 and 4 in rheumatoid nodule and synovial tissue. *Arthritis Res Ther* 2016;**18**:239. doi:10.1186/s13075-016-1140-9
- 31 Athanasou NA, Quinn J, Woods CG, *et al.* Immunohistology of rheumatoid nodules and rheumatoid synovium. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1988;**47**:398–403. doi:10.1136/ard.47.5.398

**Figure 1 : Représentation schématique des différents profils de réactivité dirigés contre les peptides étudiés**

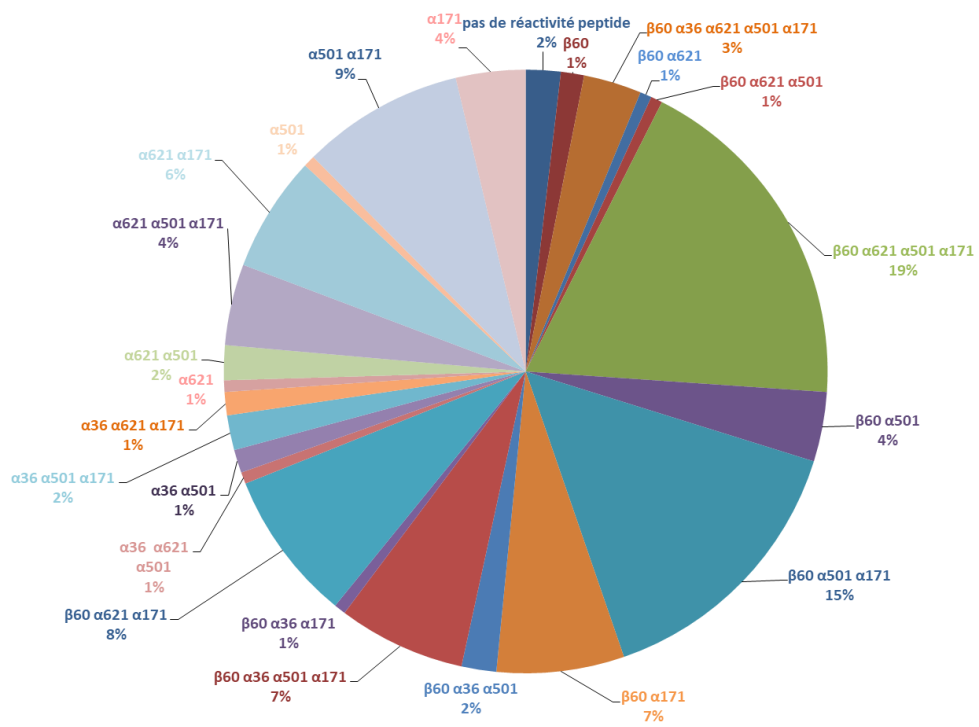
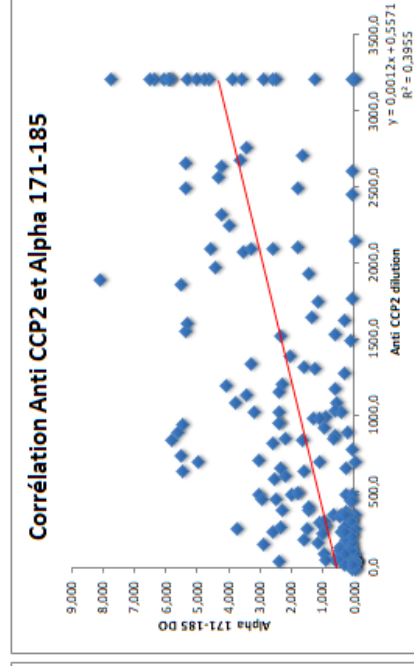
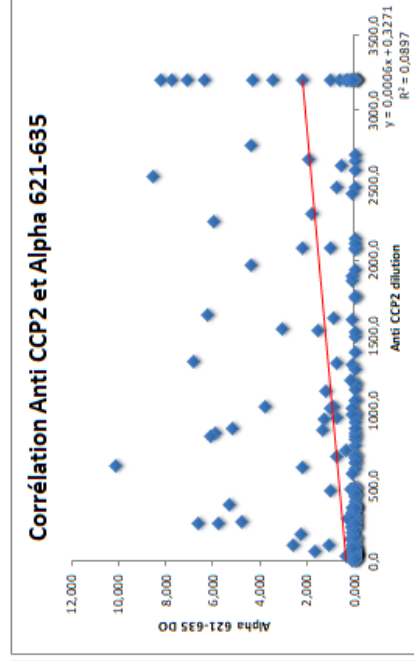
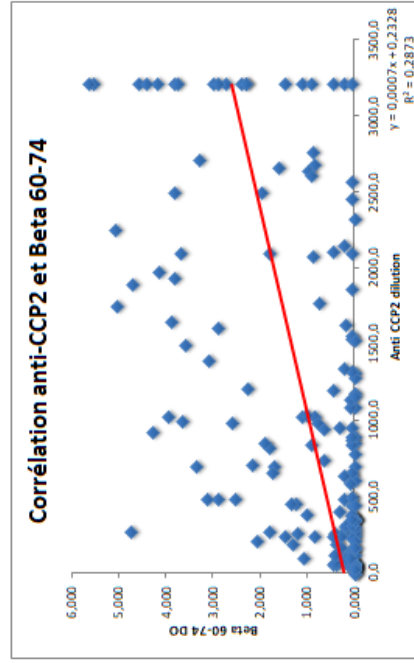
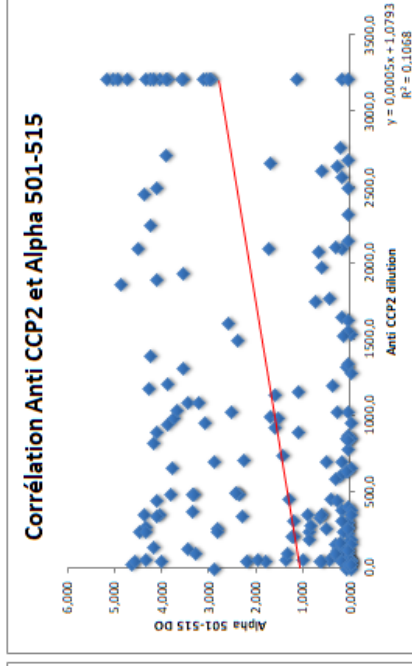
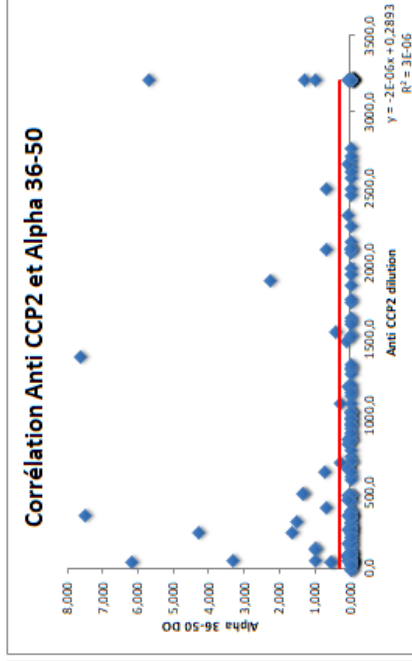
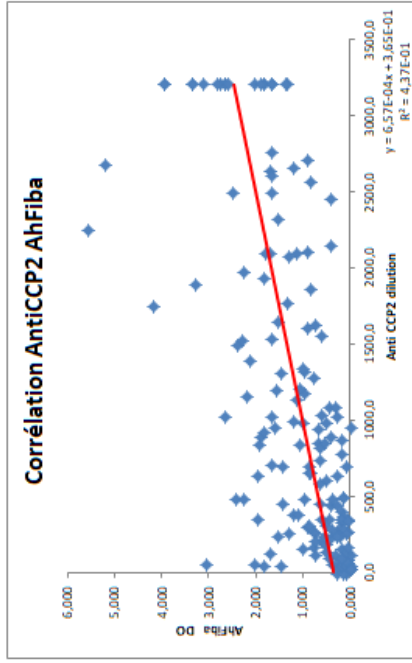


Figure 2 : Corrélation entre les titres d'anticorps anti CCP2 et les densités optiques des tests AhFiba et dirigés contre les différentes spécificités



DO : densité optique

**Tableau 1: Caractéristiques cliniques des 184 patients**

<b>Nombre de patients</b>	<b>184</b>
<b>Âge (années, moyenne)</b>	<b>62</b>
<b>Sexe féminin (%)</b>	<b>75,5</b>
<b>Délai diagnostique (moyenne, années)</b>	<b>0,9</b>
<b>Âge au diagnostic (moyenne, années)</b>	<b>46,4</b>
<b>Nodules rhumatoïdes</b>	<b>30/180 (16,6 %)</b>
<b>Tabagisme (actif ou sevré)</b>	<b>90/180 (50 %)</b>
<b>DAS28 à l'inclusion</b>	<b>2,44</b>
<b>Événement cardio-vasculaire majeur</b>	<b>15/180 (8,3 %)</b>
<b>Polyarthrite rhumatoïde érosive</b>	<b>64/180 (35,5 %)</b>
<b>Syndrome sec</b>	<b>11/167 (6,6 %)</b>
<b>Facteurs rhumatoïdes</b>	<b>121/161 (75%)</b>
<b>Traitement</b>	<b>Bonne réponse/Nombre de patients traités</b>
<b>Anti-TNF-alpha</b>	<b>90/137 (65,6 %)</b>
<b>Tocilizumab</b>	<b>37/53 (69,8 %)</b>
<b>Abatacept</b>	<b>24/46 (52,1 %)</b>

**Tableau 2: Réactivités AhFiba et envers les cinq peptides majeurs dérivés du fibrinogène citrulliné des 184 patients atteints de PR ACPA positive**

	Négatifs	Positifs
AhFibA	27/184 (14,67 %)	157/184 (85,33%)
β60–74cit	76/184 (41,30 %)	108/184 (58,70%)
α36–50cit	157/184 (85,33 %)	27/184 (14,67%)
α621–635cit	103/184 (55,98%)	81/184 (44,02%)
α501–515cit	62/184 (33,70 %)	122/184 (66,3%)
α171–185cit	45/184 (24,46 %)	139/184 (75,54%)



**Tableau 3: Association entre les spécificités épitopiques des ACPA et les allèles HLA-DRB1**

	Epitope partagé N=104/155				HLA-DRB1*04:01 N=44/155				HLADRB1*04:04,*04:05, *04:08,*01 N=69/155				HLADRB1*10 :01 N=14/155				
	NON (n)	OUI (n)	Odds Ratio [IC 95%]	P	NON (n)	OUI (n)	Odds Ratio [IC 95%]	P	NON (n)	OUI (n)	Odds Ratio [IC 95%]	P	NON (n)	OUI (n)	Odds Ratio [IC 95%]	P	
$\beta$ 60-74cit	NON (n)	25	40	1,54 [0,80 - 2,98]	0,21	49	16	1,38 [0,68 - 2,84]	0,37	37	28	1,11 [0,58 - 2,13]	0,76	61	4	1,91 [0,60 - 5,72]	0,29
	OUI (n)	26	64			62	28			49	41			80	10		
$\alpha$ 36-50cit	NON (n)	45	88	1,36 [0,54 - 3,68]	0,54	95	38	0,93 [0,34 - 2,41]	0,90	77	56	1,99 [0,80 - 4,69]	0,14	120	13	0,44 [0,04 - 2,68]	0,42
	OUI (n)	6	16			16	6			9	13			21	1		
$\alpha$ 621-635cit	NON (n)	23	62	0,55 [0,28 - 1,06]	0,08	55	30	0,46 [0,23 - 0,95]	<u>0,04</u>	45	40	0,80 [0,42 - 1,50]	0,48	79	6	1,70 [0,53 - 5,27]	0,34
	OUI (n)	28	42			56	14			41	29			62	8		
$\alpha$ 501-515cit	NON (n)	23	28	2,23 [1,10 - 4,55]	<u>0,02</u>	46	5	5,52 [2,00 - 13,64]	<u>0,0003</u>	31	20	1,38 [0,71 - 2,77]	0,35	45	6	0,63 [0,19 - 1,97]	0,40
	OUI (n)	28	76			65	39			55	49			96	8		
$\alpha$ 171-185cit	NON (n)	15	22	1,55 [0,74 - 3,28]	0,26	30	7	1,96 [0,78 - 5,00]	0,14	22	15	1,24 [0,60 - 2,71]	0,58	35	2	1,65 [0,41 - 7,81]	0,52
	OUI (n)	36	82			81	37			64	54			106	10		
Nombre de spécificités	$\leq 3$	42	77	1,63 [0,71 - 4,01]	0,25	85	34	0,96 [0,42 - 2,20]	0,92	69	50	1,54 [0,74 - 3,28]	0,25	111	8	2,78 [0,85 - 8,31]	0,07
	$> 3$	9	27			26	10			17	19			30	6		

n = nombre ; IC = intervalle de confiance

**Table 4 : Association des nodules rhumatoïdes et des facteurs rhumatoïdes avec les réactivités envers les peptides**

		Nodules rhumatoïdes (n = 30/180)				Facteur rhumatoïde (n = 122/161)			
		NON (n)	OUI (n)	Odds Ratio [IC 95%]	p	NON (n)	OUI (n)	Odds Ratio [IC 95%]	p
Facteur rhumatoïde (n=122/161)	NON (n)	35	3	<b>2,89 [0,88 – 9,52]</b>	<b>0,08</b>				
	OUI (n)	97	24						
β60-74cit	NON (n)	63	11	1,25 [0,55 – 2,69]	0,59	15	54	0,79 [0,37 – 1,68]	0,52
	OUI (n)	87	19			24	68		
α36-50cit	NON (n)	130	26	0,23 [0,33 – 2,89]	0,99	36	102	2,35 [0,70 – 7,83]	0,17
	OUI (n)	20	4			3	20		
α621-635cit	NON (n)	81	19	0,68 [0,32 – 1,53]	0,35	25	68	1,42 [0,66 – 2,88]	0,36
	OUI (n)	69	11			14	54		
α501-515cit**	NON (n)	55	6	<b>2,32 [0,95 – 5,80]</b>	<b>0,08**</b>	18	33	<b>2,31 [1,10 – 4,78]</b>	<b>0,026</b>
	OUI (n)	95	24			21	89		
α171-185cit	NON (n)	37	7	1,08 [0,45 – 2,75]	0,88	11	30	1,21 [0,56 – 2,68]	0,65
	OUI (n)	113	23			28	92		
Nombre de spécificités	≤ 3	119	21	1,65 [0,69 – 3,78]	0,26	35	93	<b>2,73 [0,91 – 7,61]</b>	<b>0,07</b>
	> 3	31	9			4	29		

N = nombre de patients

\*\* Un haut niveau de réactivité envers α501-515cit était significativement associé à la présence de nodules rhumatoïdes

79/184 patients ont un haut niveau de réactivité envers α501-515cit, parmi lesquels 18 patients ont nodules rhumatoïdes

61/184 patients n'ont pas un haut niveau de réactivité envers α501-515cit, parmi lesquels 6 patients ont des nodules rhumatoïdes.

OR = 2,71 [1,00 – 7,16], p= 0,044

**Tableau supplémentaire 1 : Caractéristiques de la population génotypée pour HLA-DRB1**

<b>Nombre de patients</b>	<b>155</b>
<b>Age (années, moyenne)</b>	61,781
<b>Sexe féminin (%)</b>	75,817
<b>Délai diagnostique (moyenne, années)</b>	1,013
<b>Âge au diagnostic (moyenne, années)</b>	46,68
<b>Nodules rhumatoïdes</b>	26/152 (17,11 %)
<b>Tabagisme (actif ou sévère)</b>	78/153 (50,98 %)
<b>DAS28 à l'inclusion</b>	2,49
<b>Événement cardiovasculaire majeur</b>	15/152 (9,87 %)
<b>Polyarthrite rhumatoïde érosive</b>	52/152 (34,21 %)
<b>Nombre moyen d'érosions</b>	5,357
<b>Ostéoporose</b>	28/146 (19,18 %)
<b>Syndrome sec</b>	11/150 (7,33 %)
<b>Traitement</b>	<b>Bons répondeurs / Nombre de patients traités</b>
<b>Anti-TNF-alpha</b>	80/117 (68,4%)
<b>Tocilizumab</b>	27/41 (65,8%)
<b>Abatacept</b>	23/39 (58,9%)

**Tableau supplémentaire 2 : Caractéristiques biologiques de la population génotypée**

	<b>Négatifs</b>	<b>Positifs</b>
<b>AhFibA</b>	26/155 (16,77 %)	129/155 (83,23 %)
<b>β60–74cit</b>	65/155 (41,94 %)	90/155 (58,06 %)
<b>α36–50cit</b>	132/155 (85,16 %)	23/155 (14,84 %)
<b>α621–635cit</b>	85/155 (54,84 %)	70/155 (45,16 %)
<b>α501–515cit</b>	51/155 (32,90 %)	104/155 (67,10 %)
<b>α171–185cit</b>	37/155 (23,87 %)	118/155 (76,13 %)

**Tableau supplémentaire 3 : Associations entre les caractéristiques cliniques et les spécificités épitopiques des ACPA**

	Nodules rhumatoïdes (n = 30/180)		Bons répondeurs anti-TNF-alpha (n = 90/137)		Bonne réponse au tocilizumab (n = 37/ 53)		Bonne réponse à l'abatacept (n = 24/46)		Facteurs rhumatoïdes (n = 121/161)		Polyarthrite rhumatoïde érosive (n = 64/180)		Tabagisme (actif ou sevré) (n = 90/180)	
	Odds Ratio [IC 95%]	p	Odds Ratio [IC 95%]	P	Odds Ratio [IC 95%]	p	Odds Ratio [IC 95%]	p	Odds Ratio [IC 95%]	p	Odds Ratio [IC 95%]	p	Odds Ratio [IC 95%]	p
Facteurs rhumatoïdes (n = 121/161)	2,89 [0,88 – 9,52]	0,087	1,13 [0,49 – 2,70]	ns	1,28 [0,35 – 4,81]	ns	0,66 [0,20 – 2,33]	ns	0,91 [0,44 – 1,87]	ns	2,37 [1,10 – 4,78]	0,022	2,37 [1,10 – 4,78]	0,022
Positivité β60-74cit	1,25 [0,55 – 2,69]	ns	1,22 [0,61 – 2,55]	ns	0,79 [0,23 – 2,53]	ns	0,68 [0,22 – 2,39]	ns	0,79 [0,37 – 1,68]	ns	1,45 [0,80 – 2,67]	ns	1,45 [0,80 – 2,67]	ns
Positivité α36-50cit	1,63 [0,61 – 4,64]	ns	1,96 [0,72 – 5,10]	ns	0,53 [0,13 – 2,34]	ns	4,20 [0,58 – 53,48]	ns	2,35 [0,70 – 7,83]	ns	0,58 [0,25 – 1,31]	ns	0,58 [0,25 – 1,31]	ns
Positivité α621-635cit	0,68 [0,32 – 1,53]	ns	1,54 [0,74 – 3,18]	ns	0,98 [0,33 – 3,15]	ns	2,92 [0,94 – 9,82]	0,077	1,42 [0,66 – 2,88]	ns	1,26 [0,70 – 2,27]	ns	1,26 [0,70 – 2,27]	ns
Positivité α501-515cit	2,32 [0,95 – 5,80]	0,08**	1,03 [0,48 – 2,13]	ns	0,23 [0,05 – 1,07]	0,065	1,43 [0,41 – 5,38]	ns	2,31 [1,10 – 4,78]	0,026	1,16 [0,63 – 2,15]	ns	1,16 [0,63 – 2,15]	ns
Positivité α171-185cit	1,08 [0,45 – 2,75]	ns	0,89 [0,38 – 2,09]	ns	1,21 [0,35 – 4,86]	ns	0,59 [0,17 – 2,15]	ns	1,21 [0,56 – 2,68]	ns	1,44 [0,74 – 2,91]	ns	1,44 [0,74 – 2,91]	ns
Nombre de spécificités > 3	1,65 [0,69 – 3,78]	ns	2,93 [1,16 – 7,48]	0,025	0,61 [0,16 – 2,16]	ns	4,12 [0,90 – 21,06]	0,086	2,73 [0,91 – 7,61]	0,069	1,56 [0,78 – 3,08]	ns	1,56 [0,78 – 3,08]	ns

NS: non significatif. IC : intervalle de confiance. \*\* Pour un haut niveau de réactivité, les anticorps anti-α501-515cit sont significativement associés à la présence de nodules rhumatoïdes  
OR = 2,71 [1,00 – 7,16], p = 0,044

**Association between HLA-DRB1\*04:01, rheumatoid nodules  
 and particular epitopes of citrullinated Fibrin in patients  
 with RA**

Journal:	<i>Annals of the Rheumatic Diseases</i>
Manuscript ID	annrhumdis-2020-219356
Article Type:	Extended report
Date Submitted by the Author:	20-Oct-2020
Complete List of Authors:	Larid, Guillaume; AP-HM, rheumatology Pancarte, Mikael; Toulouse 2 University, INSERM U1056 Offer, Geraldine; Toulouse 2 University, INSERM U1056 Clavel, Cyril; University of Toulouse - CNRS UMR5165, INSERM U1056, Laboratory of Epidermis Differentiation and Rheumatoid Autoimmunity; Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Toulouse, Institut Fédératif de Biologie, Laboratory of Cell Biology and Cytology Martin, Marielle; Aix-Marseille-University, INSERM UMRs1097 auto immune arthritis Pradel, Vincent; AP-HM, Laboratoire de Santé Publique Auger, Isabelle; Aix-Marseille-University, INSERM UMRs1097 auto immune arthritis Lafforgue, Pierre; AP-HM, Rheumatology Serre, Guy; Toulouse 2 University, INSERM U1056 Roudier, Jean; AP-HM, Rheumatology ; Aix-Marseille-University, INSERM UMRs1097 Arthrites auto immunes Balandraud, Nathalie; AP-HM, Rheumatology ; Aix-Marseille-University, INSERM UMRs1097 Arthrites auto immunes
Keywords:	Arthritis, Rheumatoid, Anti-Citrullinated Protein Antibodies, Rheumatoid Factor, Polymorphism, Genetic

SCHOLARONE™  
 Manuscripts





I, the Submitting Author has the right to grant and does grant on behalf of all authors of the Work (as defined in the below author licence), an exclusive licence and/or a non-exclusive licence for contributions from authors who are: i) UK Crown employees; ii) where BMJ has agreed a CC-BY licence shall apply, and/or iii) in accordance with the terms applicable for US Federal Government officers or employees acting as part of their official duties; on a worldwide, perpetual, irrevocable, royalty-free basis to BMJ Publishing Group Ltd ("BMJ") its licensees and where the relevant Journal is co-owned by BMJ to the co-owners of the Journal, to publish the Work in this journal and any other BMJ products and to exploit all rights, as set out in our [licence](#).

The Submitting Author accepts and understands that any supply made under these terms is made by BMJ to the Submitting Author unless you are acting as an employee on behalf of your employer or a postgraduate student of an affiliated institution which is paying any applicable article publishing charge ("APC") for Open Access articles. Where the Submitting Author wishes to make the Work available on an Open Access basis (and intends to pay the relevant APC), the terms of reuse of such Open Access shall be governed by a Creative Commons licence – details of these licences and which [Creative Commons](#) licence will apply to this Work are set out in our licence referred to above.

Other than as permitted in any relevant BMJ Author's Self Archiving Policies, I confirm this Work has not been accepted for publication elsewhere, is not being considered for publication elsewhere and does not duplicate material already published. I confirm all authors consent to publication of this Work and authorise the granting of this licence.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

## Association between HLA-DRB1\*04:01, rheumatoid nodules and particular epitopes of citrullinated fibrin in patients with RA

Guillaume LARID<sup>1</sup>, Mikael PANCARTE<sup>2</sup>, Géraldine OFFER<sup>2</sup>, Cyril CLAVEL<sup>2</sup>, Marielle MARTIN<sup>3</sup>, Vincent PRADEL<sup>4</sup>, Isabelle AUGER<sup>3</sup>, Pierre LAFFORGUE<sup>1</sup>, Jean ROUDIER<sup>1, 3</sup>, Guy SERRE<sup>2</sup>, Nathalie BALANDRAUD<sup>1, 3\*</sup>

<sup>1</sup> Rhumatologie, IML, AP-HM, 270 Boulevard de Sainte Marguerite, 13009 Marseille, France

<sup>2</sup> UMR 1056 Inserm - Université de Toulouse Hôpital Purpan Place du Dr Baylac - TSA 40031 31059 Toulouse, France

<sup>3</sup> Aix Marseille Université, INSERM UMRs 1097, Arthrites autoimmunes, 163 Avenue de Luminy, 13288 Marseille, France

<sup>4</sup> CEIP de Marseille (PACA-Corse, Centre Associé), Laboratoire de Santé Publique, Faculté de Médecine, Marseille, France

\*Corresponding author : Nathalie Balandraud: [Nathalie.balandraud@ap-hm.fr](mailto:Nathalie.balandraud@ap-hm.fr)

## Abstract

**Objectives:** Rheumatoid arthritis (RA) is associated with HLA-DRB1 genes encoding the shared epitope (SE), a 5 amino acid motive. RA is preceded by the emergence of anti-citrullinated protein antibodies (ACPAs). Citrullin is a neutral amino acid resulting from post translational modification of arginin by Peptidyl Arginyl Deiminases (PADs). ACPA recognize epitopes from citrullinated human fibrinogen (Fib-cit) and can be specifically detected also with the AhFibA assay. Five peptides derived from Fib-cit together present almost all of the epitopes recognized by patients with ACPA-positive RA:  $\beta$ 60–74cit,  $\alpha$ 36–50cit,  $\alpha$ 621–635cit,  $\alpha$ 501–515cit and  $\alpha$ 171–185cit. Our objective was to study whether clinical characteristics and HLA-DRB1 genetic background were associated with a specific reactivity against these epitopes.

**Methods:** 184 ACPA positive RA patients fulfilling the 2010 ACR/EULAR criteria were studied. Patients characteristics, including HLA-DRB1 genotype, were collected from their medical files. Anti-CCP2, AhFibA, and antibodies against the five major Fib-cit peptides were analyzed using ELISA assays.

**Results:** Anti- $\alpha$ 505-515cit antibodies were associated with HLA-DRB1\*04:01 (OR = 5.52 [2.00 – 13.64];  $p = 0.0003$ ). High level anti- $\alpha$ 505-515cit antibodies were significantly associated with rheumatoid nodules (OR = 2.71 [1.00 – 7.16],  $p = 0.044$ ).

**Conclusion:** These findings highlight the role played by the HLA-DRB1\*04:01 molecule and its rapid intracellular route into the lysosomes, enabling original antigen processing. Immune complexes containing anti- $\alpha$ 501–515cit antibodies and rheumatoid factors might be involved in the development of rheumatoid nodules on the HLA-DRB1\*04:01 background.

**Key words ;** ACPA, Rheumatoid arthritis, HLA-DRB1, AhFiba,  $\alpha$ 501–515cit

### Key messages:

We analyzed whether the epitopic specificities of ACPAs were associated with particular HLA-DR alleles or clinical features in 184 patients with ACPA positive RA. Anti-fibrinogen  $\alpha$ 501–515cit antibodies are associated with HLA-DRB1\*0401 and with rheumatoid nodules.

## Introduction

Rheumatoid arthritis (RA) is the most severe type of chronic autoimmune arthritis. Its prevalence ranges from 0.5% to 1.1% in North America and northern Europe, and between 0.3 and 0.7% in southern Europe[1].

RA features symmetrical bilateral polyarthritis of the small joints. Extra-articular manifestations such as rheumatoid nodules, lung damage, or vasculitis can also be present[2].

RA is preceded by the emergence of anti citrullinated protein antibodies (ACPAs). Citrullin is a neutral amino acid resulting from post translational modification of arginin by Peptidyl Arginyl Deiminases (PADs).

In anti-citrullinated protein (ACPA) positive RA, the genetic risk is mostly carried by shared epitope (SE) positive HLA-DR molecules encoded in the major histocompatibility complex (MHC). The SE (a five amino acids motif encompassing positions 70 to 74 of the HLA-DRB1 chain) is present in approximately 70% of patients with ACPA-positive RA [3,4]. Different combinations of HLA-DR alleles (genotypes) confer different relative risks of developing ACPA-positive RA, with highest risks for genotypes encoding two copies of the SE [5].

ACPA present in patients with RA recognize citrullinated epitopes on numerous proteins [6]. A major citrullinated antigen expressed in the rheumatoid joint is Fibrin and both its alpha and beta chain are recognized by ACPA [7]. ACPA are likely to play a role in the pathophysiology of the disease [8].

The discovery of ACPA led to the development of diagnostic tests based on synthetic cyclic citrullinated peptides (CCP) [9]. Since then different generations of anti-CCP tests have been commercialised [10]. ACPAs have become one of the 2010 American College of Rheumatology (ACR)/EULAR RA classification criteria [11].

Besides anti-CCP tests, anti-human citrullinated fibrinogen antibodies (AhFibA) can be used for the serological diagnosis of early RA [12].

Five peptides from citrullinated fibrinogen (Fib-cit) together present almost all of the epitopes recognised by patient's sera with ACPA-positive RA. These immunodominant epitopes are borne by the peptides  $\beta$ 60–74<sup>cit</sup><sub>60,72,74</sub>,  $\alpha$ 36–50<sup>cit</sup><sub>38,42</sub>,  $\alpha$ 621–635<sup>cit</sup><sub>621,627,630</sub>,  $\alpha$ 501–515<sup>cit</sup><sub>510,512</sub> and  $\alpha$ 171–185<sup>cit</sup><sub>178,181</sub>[7,13,14].

1  
2 Most published studies analyse the recognition of 3 ( $\beta$ 60–74cit,  $\alpha$ 36–50cit,  $\alpha$ 621–635cit)  
3  
4 out of the 5 major epitopes and study early RA defined by the 1987 ACR criteria[15] not  
5  
6 the 2010 ACR/EULAR criteria.  
7

8  
9 The primary objective of this work was to study whether, in a cohort of 184 patients with  
10  
11 ACPA-positive RA fulfilling the 2010 ACR/EULAR criteria, a particular HLA-DR  
12  
13 background or original clinical patterns were associated with antibodies to the epitopes  
14  
15 from the 5 major Fib-cit peptides  $\beta$ 60–74cit,  $\alpha$ 36–50cit,  $\alpha$ 621–635cit,  $\alpha$ 501–515cit and  
16  
17  $\alpha$ 171–185cit.  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

# Material and methods

## Patients

We carried out a prospective study on 184 patients followed at the rheumatology department of Sainte Marguerite Hospital in Marseille. Patients included were considered ACPA-positive RA based on previous anti-CCP2 results obtained with various commercial assays and fulfilled the 2010 ACR/EULAR criteria. Patients treated with rituximab were excluded due to its potential effect on ACPA levels.

Patient characteristics were collected from their medical files: presence of rheumatoid nodules, smoking habits, age at diagnosis, HLA-DR genotype, rheumatoid factors (RF), activity and erosive characteristics of the disease.

- Disease activity was measured using the Disease Activity Score calculated with the level of C-reactive protein (DAS28-CRP) on the day of the sample.
- Treatment response was evaluated according to according to the EULAR response criteria. Patients are considered to have shown a good response if their DAS28 is  $\leq 3.2$  and has decreased by  $>1.2$  [16]. According to the 2019 update of EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis, the time needed to achieve treatment target has been set at 6 months before concluding to treatment failure [17].
- Patient personal history of a cerebrovascular accident, myocardial infarction or heart failure was defined as a major cardiovascular event.
- Patients were classed as smokers (active or previous smokers) or non-smokers.
- Lung damage was diagnosed by radiologists from CT chest scans. It should be noted that only some of the patients had had a CT chest scan.
- Erosive RA was defined according to the EULAR definition of erosive RA [18].
- Dry eye syndrome was defined as a Schirmer's test value  $\leq 5$  mm/5 min, or an Ocular Staining Score  $\geq 5$ . Dry mouth was defined as an unstimulated salivary flow rate of  $\leq 0,1$  mL/min.
- Osteoporosis was defined either by personal history of an osteoporosis fracture, or by bone mineral density with a T-score below  $- 2,5$  for at least one of the testing sites.



## Samples

Patients gave a single blood sample from which plasma was isolated. Samples were stored at  $-80^{\circ}\text{C}$ . AhFibA and ACPA fine specificities to Fibrinogen peptides were assayed and anti-CCP2 were re-assayed with a same test in all patients.

## Ethics

All patients gave informed written consent for this study. Patient data was pseudo-anonymized. Sample collection was approved by the ethics committee under the number DC-2008-327. This study was declared to the Assistance Publique – Hôpitaux de Marseille (AP-HM) under the number PADS19-332.

## ACPA testing

For all these ACPA tests, we used the positivity threshold (N) corresponding to 95% diagnostic specificity.

Plasma anti-CCP2 assays were performed using the ELISA CCPlus® IMMUNOSCAN kit (Euro Diagnostica, Arnhem, The Netherlands) according to the manufacturer's recommendations. Antibody titres expressed in arbitrary units (AU/mL) were considered positive above 25 AU/mL.

Anti-human citrullinated fibrinogen IgG autoantibodies were detected with a previously described ELISA (AhFibA). Antibody titres above 0.056 were considered positive [7,19].

**IgM Rheumatoid Factor (RF)** was assayed with the RF ELISA from Orgentec and considered positive if  $>20$  UI/mL.

## Antibodies to Fib-cit peptides

Peptides with the following sequences were synthesized with either arginines (R) in control peptides or citrullines (R) in target peptides, and used as immunosorbents:

- $\beta$ 60–74: RPAPPPISGGGYRAR
- $\alpha$ 36–50: GPRVVERHQSACKDS
- $\alpha$ 621–635: RGHAKSRPVRGIHTS
- $\alpha$ 501–515: biotin-ahx\*-SGIGTLDGFRHRHPD
- $\alpha$ 171–185: biotin-ahx\*-VDIDIKIRSCRGSCS

\*: ahx : aminohexanoic acid

1  
2 IgG autoantibodies to the Fibrin-derived citrullinated peptides  $\alpha$ 36–50cit,  $\beta$ 60–74cit,  
3  $\alpha$ 621-635cit were tested by ELISA according to a previously described method where  
4 peptides are passively adsorbed on microtitration plates [7,19]. IgG autoantibodies to  
5 the peptides  $\alpha$ 501–515cit and  $\alpha$ 171-185cit were tested by ELISA with biotinylated  
6 peptides fixed on Avidin. Briefly, plates (Maxisorp; NUNC, VWR International, Fontenay-  
7 sous-Bois, France) were incubated overnight with Avidin at 5  $\mu$ g/mL. After washing with  
8 PBS 0.1% Tween-20 (PBS-T) biotinylated peptides were incubated for 1 hour at 1 $\mu$ g/mL  
9 in PBS 2% BSA (PBS-BSA). After 3 washings the plates were incubated for 1 hour with  
10 patient plasma diluted to 1/100 in PBS-BSA then washed 3 times in PBS-T. A  
11 peroxidase-conjugated goat anti-human IgG antibody (Southern Biotechnology) diluted  
12 to 1/2500 in PBS-BSA was incubated for 1h and, after 3 washings, reactivity was  
13 revealed by ortho-phenylenediamine dihydrochloride and hydrogen peroxide in a citrate  
14 buffer at pH 5. The reaction was stopped after 5min with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and optical density (OD)  
15 read at 492 nm. All the steps were performed at room temperature around 20°C [7].  
16 The specific antibody reactivity was defined as the OD difference between the  
17 citrullinated and non-citrullinated control peptide. Interassay variations were corrected  
18 by linear regression analysis using reference peptide and plasma, tested on each plate.  
19  $\Delta$ OD below the cut-off value of 0.25 were considered negative. Patients with  $\Delta$ OD over  
20 the cut-off value were divided into 3 equal groups with weak, medium or high titres, and  
21 patients from the medium and high titre groups, considered together to have a "high  
22 level" reactivity.  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39

### 40 **Statistical analysis**

41 Association studies were carried out with contingency tables using the Chi2 test and  
42 Fisher's exact test when Chi2 was not applicable. Pearson's test was used to determine  
43 significance of the titre correlations between anti-CCP2, AhFibA, and antibodies to the  
44 peptides.  
45  
46  
47

48 Statistical analysis was carried out using PRISM software for Windows (GraphPad  
49 Software, San Diego, California, USA). The significance threshold was set at  $p \leq 0.05$ .  
50 We considered that  $p \leq 0.09$  was a tendency towards significance given the small  
51 numbers in our cohort.  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

## Results

### Clinical description of the population (Table 1)

The clinical characteristics of the 184 patients with ACPA-positive RA are shown in Table 1.

### Serological profile of the 184 patients with ACPA positive RA (Table 2, Figure 1)

The biological characteristics of the 184 patients recruited as ACPA-positive RA based on their anti-CCP2 status are shown in Table 2. When re-assayed with a same reference assay, 98.51% of patients had anti-CCP2. On the other hand, 83.23% had AhFibA, and 69.98% had IgM RF.

#### - Among the Fib-cit peptides,

- 76.13% of patients recognized biotin- $\alpha$ 171–185cit.
- 67.10% recognised biotin- $\alpha$ 501–515cit.
- 58.06 % recognised  $\beta$ 60–74cit.
- 45.16% recognised  $\alpha$ 621–635cit.
- 14.84% recognised  $\alpha$ 36–50cit.

#### - Epitope recognition profile of ACPA in 20 random RA patients (Figure 1)

Analysis of epitope recognition was performed in 20 randomly chosen patients:

- 19% of patients recognized the 4 peptides  $\beta$ 60–74cit,  $\alpha$ 501–515cit,  $\alpha$ 621–635cit, and  $\alpha$ 171–185cit.
- 15% of patients recognized the 3 peptides  $\beta$ 60–74cit,  $\alpha$ 501–515cit, and  $\alpha$ 171–185cit.
- 4% of patients only recognised  $\alpha$ 171-185cit.

### Correlations of the titres of anti-CCP2 and anti-Fib-cit peptides antibodies (Figure 2)

Anti-CCP2 and AhFibA titres are strongly correlated ( $r_s$ : 0.7037;  $p = 5.69 \times 10^{-29}$  Pearson's)

Anti-CCP2 and anti-Fib-cit peptides titres are strongly correlated for 4 of the 5 peptides:

- $\beta$ 60–74cit ( $r_s$ : 0.5162;  $p = 5.43 \times 10^{-14}$ , Pearson's)
- $\alpha$ 621-635cit ( $r_s$ : 0.2703;  $p = 0.0002$ , Pearson's)
- $\alpha$ 501–515cit ( $r_s$ : 0.2979;  $p = 3.82 \times 10^{-5}$ , Pearson's)
- $\alpha$ 171-185cit ( $r_s$ : 0.6473 ;  $p = 2.41 \times 10^{-23}$ , Pearson's)

1  
2  
3  
4 By contrast there is no correlation of anti-CCP2 titres and anti- $\alpha$ 36–50cit titres  
5 ( $r_s$ : 0.0078;  $p$  = 0.916).  
6  
7

## 8 9 **HLA-DRB1 background**

10 Among the 184 patients with ACPA-positive RA, 155 were genotyped for HLA-DRB1.  
11 Their clinical characteristics were not different from those in the total 184 patients (see  
12 supplementary Tables 1 and 2).  
13

14  
15 67.1% of patients were SE positive (49% of patients expressed one copy of the SE,  
16 18.1% expressed two copies).  
17  
18

## 19 20 21 **HLA-DR status and clinical characteristics**

22  
23 44/155 patients expressed HLA-DRB1\*0401 of whom 11 had rheumatoid nodules,  
24 111/155 patients did not express HLA-DRB1\*0401 of whom 19 had rheumatoid  
25 nodules ( $\chi^2$ , OR = 2.15 [0.91 – 5.25];  $p$  = 0.081). Thus, HLA-DRB1\*04:01 was  
26 associated with rheumatoid nodules. Other clinical characteristics were not associated  
27 with any HLA-DRB1 allele.  
28  
29  
30

## 31 32 33 **HLA-DRB1 and recognition of Fib-cit peptides (Table 3)**

### 34 35 36 37 **1/ SE dose effect on the number of Fib-cit peptides recognized**

38 Patients with two copies of the SE recognized more than 3 Fib-cit peptides (OR =  
39 3.02 [1.12 – 8.74];  $p$  = 0.034)  
40  
41

### 42 43 44 **2/ HLA-DRB1 alleles and Fib-cit epitope specificity**

45 HLA-DRB1\*0401 was associated with antibodies to  $\alpha$ 501-515 (OR = 5.52 [2.00 –  
46 13.64];  $p$ =0.0003), and with absence of antibodies to  $\alpha$ 621-625 (OR=0.46 [0.23 –  
47 0.95];  $p$ =0.036).  
48  
49  
50

## 51 52 53 **Epitope specificity of anti-Fib-cit antibodies and clinical** 54 **characteristics (Table 4 and supplementary Table 3)**

### 55 56 57 **1/ Multiple peptide recognition**

58 42 of 184 patients recognized more than 3 Fib-cit peptides. The 142 remaining  
59 patients recognized 3 Fib-cit peptides or less. Patients who recognized more than 3  
60

1  
2 Fib-cit peptides showed better responses to TNF-alpha inhibitors (OR = 2.93 [1.16 –  
3 7.48]; p = 0.025) and had non erosive RA (OR = 0.45 [0.19 – 1.04]; p = 0.051).  
4  
5  
6

7 **2/ Recognition of the  $\alpha$ 501–515 epitope was associated with RF and rheumatoid**  
8 **nodules (Table 4)**  
9

10 30/180 patients had and 130 had not rheumatoid nodules, data being unknown for 20  
11 patients.  
12

- 13  
14 - Reactivity against  $\alpha$ 501–515cit tended to be associated with rheumatoid  
15 nodules (OR= 2.32 [0.95 -5.80], p = 0.08).
- 16  
17 - High level reactivity against  $\alpha$ 501–515cit was associated with rheumatoid  
18 nodules. 79/184 patients had high level reactivity against  $\alpha$ 501–515cit, among  
19 them 18 patients had rheumatoid nodules, 61/184 patients had not high level  
20 reactivity against  $\alpha$ 501–515cit, of whom only 6 patients had rheumatoid  
21 nodules (OR=2.71 [1.00 – 7.16], p= 0.044).
- 22  
23 - Anti  $\alpha$ 501–515cit antibodies were associated with RF (OR=2.31 [1.10 – 4.78],  
24 p= 0.026).  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

## Discussion

We studied the association between HLA-DR background, specificity of ACPAs to epitope borne by citrullinated Fibrinogen and clinical characteristics in 184 patients with ACPA-positive RA fulfilling the ACR/EULAR 2010 criteria.

The clinical and biological characteristics of the RA population studied were classical [5].

Analysis of ACPA epitope specificities in our 184 plasmas partly differed from those described in pilot studies mainly for the peptide  $\alpha$ 36-50cit and for  $\alpha$ 501-515cit and  $\alpha$ 171-185cit used biotinylated in the present study :

- 58% had anti- $\beta$ 60-74cit antibodies versus 70% of patients in pilot studies.
- 15% had anti- $\alpha$ 36-50cit antibodies versus 60% of patients in pilot studies.
- 45% had anti- $\alpha$ 621-635cit antibodies versus 50% of patients in pilot studies.
- 67% had anti- $\alpha$ 501-515cit antibodies versus 45% of patients in pilot studies.
- 76% had anti- $\alpha$ 171-185cit antibodies versus 45 % of patients in pilot studies.

For the 2 peptides  $\alpha$ 501-515cit and  $\alpha$ 171-185cit the difference results from the sensitivity of the ELISAs used. In the pilot study [7], the peptides were adsorbed on polystyrene plates whereas in this study the biotinylated peptides were linked on avidin-coated ELISA plates. Such an enhancement of the sensitivity is well known and was already demonstrated for citrullinated peptides [20].

**We first analysed association between multiple peptide recognition and clinical characteristics.**

**Multiple peptide recognition (> 3) was not associated with erosive arthritis,** although data showed association between erosions and high level of ACPA [21,22].

**Multiple peptide recognition (> 3) was associated with a better response to TNF-alpha inhibitors** although contradictory data was found in literature : indeed the presence of ACPA has been associated either with a reduced response [23], no effect [24] or a better response [25]. A better response to TNF-alpha inhibitors may explain the less erosive pattern observed in our patients with multiple peptide recognition. Indeed, TNF-alpha inhibitors limit radiographic progression in patients with RA [26].

**Pulmonary lesions were not studied** here because few patients had a chest computerized tomography-scan in this study.



**We then analyzed association between Fib-cit peptides and HLA background and clinical characteristics.**

**We found that:**

**1/ HLA-DRB1\*0401 was associated with anti- $\alpha$ 501–515cit antibodies.**

**2/ Rheumatoid nodules were associated with HLA-DRB1\*0401.**

**3/"High level" anti- $\alpha$ 501–515cit antibodies were associated with rheumatoid nodules and rheumatoid factors.**

**1/ HLA-DRB1\*0401 was associated with anti- $\alpha$ 501–515cit antibodies.**

Indeed, 44/155 patients expressed HLA-DRB1\*0401 of whom 76 had anti- $\alpha$ 501-515cit antibodies, 111/155 patients did not express HLA-DRB1\*0401 of whom 65 had anti- $\alpha$ 501-515cit, OR = 5.52 [2.00-13.64] ; p = 0.0003 (Table 3).

In the development of IgG antibody responses, HLA-DR molecules intervene by presenting antigenic peptides to T follicular helper (Tfh) lymphocytes that provide help to B lymphocytes with surface IgM of a given specificity. Specificity of the antibody response relies on the IgM molecule on the B lymphocyte, not on the antigenic peptide presented by-HLA-DR.

Thus, association of HLA-DRB1\*0401 with anti- $\alpha$ 501-515cit antibodies does not indicate that this RA-associated allele is capable to choose between different B cell epitopes. Rather it suggests that HLA-DRB1\*0401 can provide help to B lymphocytes specific for  $\alpha$ 501-515cit Fib-cit peptide and that others HLA-DR alleles can't. This suggests special efficacy of HLA-DRB1\*0401 as a peptide processor and presentator which in turn allows the development of a more efficient Tfh response. HLA-DR molecules encoded by HLA-DRB1\*0401 have been shown to undergo a shortcut from endoplasmic reticulum to lysosomes which allows association with better processed antigenic peptide [27,28].

**2/ HLA-DRB1\*0401 was associated with rheumatoid nodules**

Indeed, 44/155 patients expressed HLA-DRB1\*0401 of whom 11 had rheumatoid nodules, 111/155 patients did not express HLA-DRB1\*0401 of whom 19 had rheumatoid nodules (OR = 2.15 [0.91 – 5.25] ; p = 0.081). Association of HLA-DRB1\*0401 with rheumatoid nodules is classical [22,29].

### 3/ “High level” anti- $\alpha$ 501-515cit antibodies were associated with rheumatoid nodules

Indeed, 79/184 patients had high level reactivity against  $\alpha$ 501–515cit, among them 18 patients had rheumatoid nodules, 61/184 patients had not high level reactivity against  $\alpha$ 501–515cit, of whom 6 patients had rheumatoid nodules (OR=2.71 [1.00 – 7.16],  $p=0.044$ ). Anti  $\alpha$ 501–515cit antibodies were also associated with RF (OR=2.31 [1.10 – 4.78],  $p=0.026$ ). Rheumatoid nodules contain Fibrinogen and IgG. Their necrotic centre contains citrullinated proteins and IgM rheumatoid factor [30,31]. So, our data suggests that anti-  $\alpha$ 501–515cit antibodies might form immune complexes with Fib-cit and rheumatoid factors and be at the origin of rheumatoid nodules.

We analyzed the epitope specificity of ACPAs using five major citrullinated Fibrinogen peptides and checked whether they were associated with particular clinical, biological, or genetic patterns. Our main finding is the association of antibodies to epitopes borne by the citrullinated peptide  $\alpha$ 501–515 present on the alpha chain of fibrinogen, with HLA-DRB1\*0401 and with rheumatoid nodules. This unexpected epitope specificity of ACPAs in HLA-DRB1\*0401 patients may relate to the original intracellular route of HLA-DRB1\*0401. The association of anti- $\alpha$ 501–515cit antibodies with rheumatoid nodules may suggest that anti- $\alpha$ 501–515cit particularly contributes to the immune complexes in rheumatoid nodules.

**Author contributions.** NB, GS, GL designed research and analysed data. MM, NB, IA collected samples. MP, GO, and CC tested and analysed fine specificities. VP performed statistical analysis. GL, NB, PL analysed patients files. GL, NB, JR wrote the manuscript. JR and GS corrected the manuscript.

**Acknowledgments.** This study was supported by INSERM. The authors would like to thank all physicians who participated in the diagnostics and therapy of the presented patients.

#### Competing interests

The authors declare no financial interests that could create a potential conflict of interest or the appearance of a conflict of interest regarding this work.

## References

- 1 Alamanos Y, Drosos A. Epidemiology of adult rheumatoid arthritis. *Autoimmunity Reviews* 2005;**4**:130–6. doi:10.1016/j.autrev.2004.09.002
- 2 Smolen JS, Aletaha D, McInnes IB. Rheumatoid arthritis. *The Lancet* 2016;**388**:2023–38. doi:10.1016/S0140-6736(16)30173-8
- 3 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. doi:10.1002/art.1780301102
- 4 de Almeida DE, Ling S, Holoshitz J. New insights into the functional role of the rheumatoid arthritis shared epitope. *FEBS Letters* 2011;**585**:3619–26. doi:10.1016/j.febslet.2011.03.035
- 5 Balandraud N, Picard C, Reviron D, *et al.* HLA-DRB1 Genotypes and the Risk of Developing Anti Citrullinated Protein Antibody (ACPA) Positive Rheumatoid Arthritis. *PLoS ONE* 2013;**8**:e64108. doi:10.1371/journal.pone.0064108
- 6 Schellekens GA, de Jong BA, van den Hoogen FH, *et al.* Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1998;**101**:273–81. doi:10.1172/JCI1316
- 7 Sebbag M, Moinard N, Auger I, *et al.* Epitopes of human fibrin recognized by the rheumatoid arthritis-specific autoantibodies to citrullinated proteins. *Eur J Immunol* 2006;**36**:2250–63. doi:10.1002/eji.200535790
- 8 England BR, Thiele GM, Mikuls TR. Anticitrullinated protein antibodies: origin and role in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. 2017. doi:info:doi/10.1097/BOR.0000000000000356
- 9 Schellekens GA, Visser H, Hazes JMW, *et al.* The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. ;:9.
- 10 Ji M, Hur M, Moon H-W, *et al.* Comparison of second- and third-generation immunoassays for detection of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* 2018;**78**:477–82. doi:10.1080/00365513.2018.1499957
- 11 Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, *et al.* 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis & Rheumatism* 2010;**62**:2569–81. doi:10.1002/art.27584
- 12 Nogueira L, Sebbag M, Chapuy-Regaud S, *et al.* Autoantibodies to deiminated fibrinogen are the most efficient serological criterion for the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Research*;4:38.
- 13 Iobagiu C, Magyar A, Nogueira L, *et al.* The antigen specificity of the rheumatoid arthritis-associated ACPA directed to citrullinated fibrin is very closely restricted. *Journal of Autoimmunity* 2011;**37**:263–72. doi:10.1016/j.jaut.2011.07.003
- 14 Nogueira L, Cornillet M, Singwe-Ngandeu M, *et al.* In Black Africans with rheumatoid arthritis, ACPA recognize citrullinated fibrinogen and the derived peptides  $\alpha$ 36-50Cit38,42 and  $\beta$ 60-74Cit60,72,74, like in Caucasians. *Clinical Immunology* 2014;**152**:58–64. doi:10.1016/j.clim.2014.02.011

- 15 Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, *et al.* The american rheumatism association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism* 1988;**31**:315–24. doi:10.1002/art.1780310302
- 16 van Gestel AM, Haagsma CJ, van Riel PL. Validation of rheumatoid arthritis improvement criteria that include simplified joint counts. *Arthritis and Rheumatism* 1998;**41**:1845–50. doi:10.1002/1529-0131(199810)41:10<1845::AID-ART17>3.0.CO;2-K
- 17 Smolen JS, Landewé RBM, Bijlsma JWJ, *et al.* EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2019 update. *Ann Rheum Dis* 2020;:annrheumdis-2019-216655. doi:10.1136/annrheumdis-2019-216655
- 18 van der Heijde D, van der Helm-van Mil AHM, Aletaha D, *et al.* EULAR definition of erosive disease in light of the 2010 ACR/EULAR rheumatoid arthritis classification criteria. *Ann Rheum Dis* 2013;**72**:479–81. doi:10.1136/annrheumdis-2012-202779
- 19 Chapuy-Regaud S, Nogueira L, Clavel C, *et al.* IgG subclass distribution of the rheumatoid arthritis-specific autoantibodies to citrullinated fibrin. *Clinical & Experimental Immunology* 2005;**139**:542–50. doi:10.1111/j.1365-2249.2004.02708.x
- 20 Cornillet M, Babos F, Magyar A, *et al.* Seropositivity and Antibody Profiling of Patients Are Dramatically Impacted by the Features of Peptides Used as Immunosorbents: A Lesson from Anti-Citrullinated Protein/Peptide Antibody. *Jl* 2018;**201**:3211–7. doi:10.4049/jimmunol.1800330
- 21 Joo YB, Park Y-J, Park K-S, *et al.* Association of cumulative anti-cyclic citrullinated protein antibodies with radiographic progression in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2019;**38**:2423–32. doi:10.1007/s10067-019-04554-w
- 22 Scherer HU, van der Woude D, Willemze A, *et al.* Distinct ACPA fine specificities, formed under the influence of HLA shared epitope alleles, have no effect on radiographic joint damage in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2011;**70**:1461–4. doi:10.1136/ard.2010.146506
- 23 Potter C, Hyrich KL, Tracey A, *et al.* Association of rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptide positivity, but not carriage of shared epitope or *PTPN22* susceptibility variants, with anti-tumour necrosis factor response in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2009;**68**:69–74. doi:10.1136/ard.2007.084715
- 24 Lv Q, Yin Y, Li X, *et al.* The Status of Rheumatoid Factor and Anti-Cyclic Citrullinated Peptide Antibody Are Not Associated with the Effect of Anti-TNF $\alpha$  Agent Treatment in Patients with Rheumatoid Arthritis: A Meta-Analysis. *PLoS ONE* 2014;**9**:e89442. doi:10.1371/journal.pone.0089442
- 25 Sokolove J, Schiff M, Fleischmann R, *et al.* Impact of baseline anti-cyclic citrullinated peptide-2 antibody concentration on efficacy outcomes following treatment with subcutaneous abatacept or adalimumab: 2-year results from the AMPLE trial. *Ann Rheum Dis* 2016;**75**:709–14. doi:10.1136/annrheumdis-2015-207942
- 26 Murray E, Ellis A, Butylkova Y, *et al.* Systematic review and network meta-analysis: effect of biologics on radiographic progression in rheumatoid arthritis. *Journal of Comparative Effectiveness Research* 2018;**7**:959–74. doi:10.2217/cer-2017-0106
- 27 Auger I, Escola JM, Gorvel JP, *et al.* HLA-DR4 and HLA-DR10 motifs that carry susceptibility to rheumatoid arthritis bind 70-kD heat shock proteins. *Nat Med* 1996;**2**:306–10. doi:10.1038/nm0396-306

- 1  
2 28 Roth S, Willcox N, Rzepka R, *et al.* Major Differences in Antigen-Processing Correlate with a Single  
3 Arg<sup>71</sup> ↔Lys Substitution in HLA-DR Molecules Predisposing to Rheumatoid Arthritis and with Their  
4 Selective Interactions with 70-kDa Heat Shock Protein Chaperones. *J Immunol* 2002;**169**:3015–20.  
5 doi:10.4049/jimmunol.169.6.3015  
6
- 7 29 Weyand CM, Xie C, Goronzy JJ. Homozygosity for the HLA-DRB1 allele selects for extraarticular  
8 manifestations in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 1992;**89**:2033–9. doi:10.1172/JCI115814  
9
- 10 30 Turunen S, Huhtakangas J, Nousiainen T, *et al.* Rheumatoid arthritis antigens homocitrulline and  
11 citrulline are generated by local myeloperoxidase and peptidyl arginine deiminases 2, 3 and 4 in  
12 rheumatoid nodule and synovial tissue. *Arthritis Res Ther* 2016;**18**:239. doi:10.1186/s13075-016-  
13 1140-9  
14
- 15 31 Athanasou NA, Quinn J, Woods CG, *et al.* Immunohistology of rheumatoid nodules and rheumatoid  
16 synovium. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1988;**47**:398–403. doi:10.1136/ard.47.5.398  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

Figure 1 : Different profile of epitopic reactivity in a sample of 20 patients

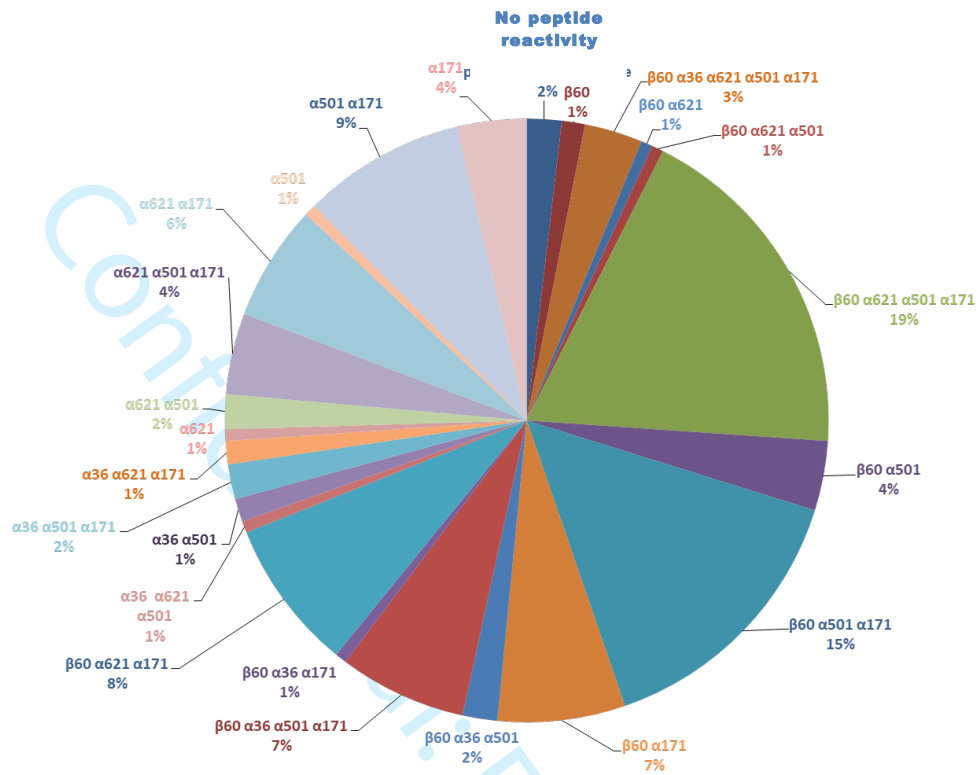
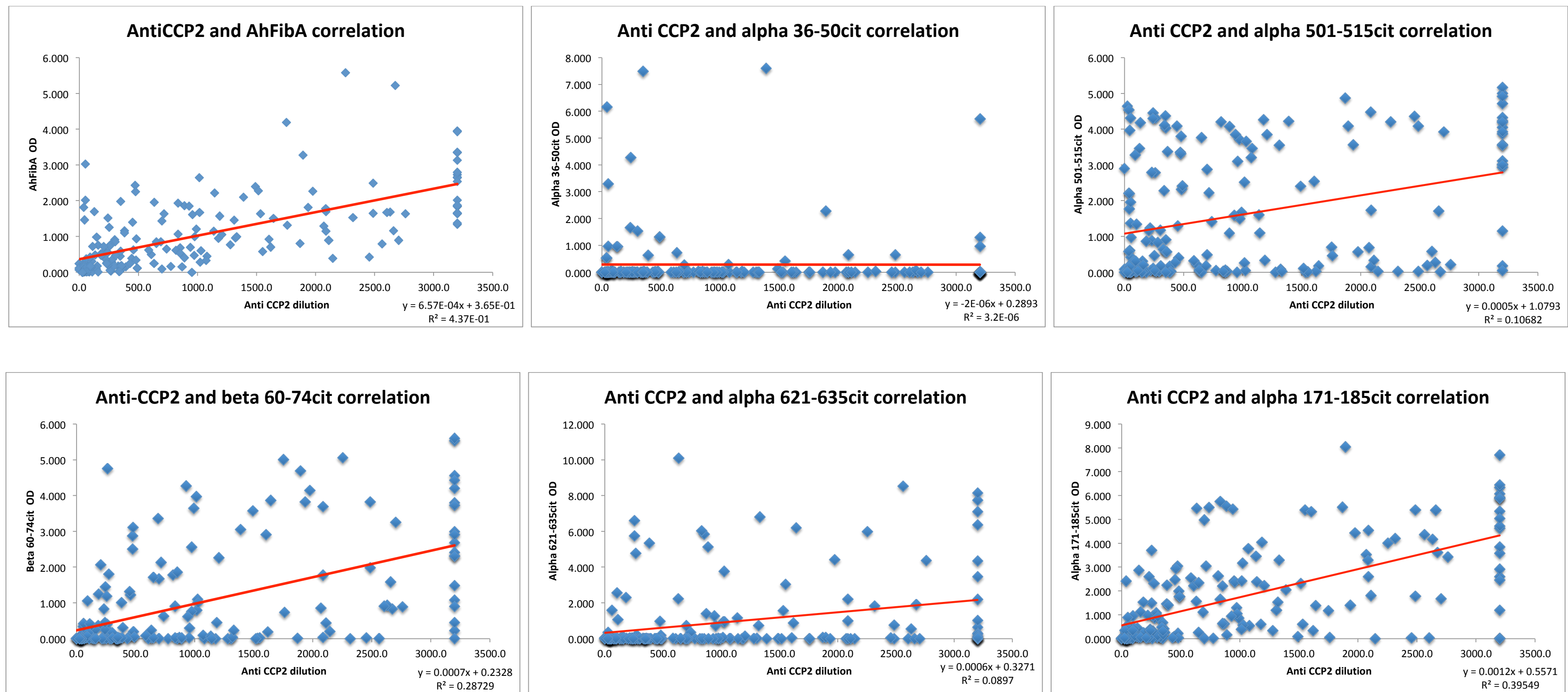




Figure 2 : Correlation between the ODs of anti peptide ELISA and AhFibA and the titers of anti CCP2 tests



OD : optical density ; AhFibA : anti human fibrinogen antibodies ; anti CCP : anti cyclic citrullinated peptides

Positive correlation between anti CCP2 and AhFibA ( $r_s : 0,7037$  ;  $p = 5,69 \times 10^{-29}$ ). Positive correlation between anti CCP2 and  $\beta 60-74$  ( $r_s : 0,5162$  ;  $p = 5,43 \times 10^{-14}$ ),  $\alpha 621-635$  ( $r_s : 0,2703$  ;  $p = 0,0002$ ),  $\alpha 501-515$  ( $r_s : 0,2979$  ;  $p = 3,82 \times 10^{-5}$ ),  $\alpha 171-185$  ( $r_s : 0,6473$  ;  $p = 2,41 \times 10^{-23}$ ).

No correlation between anti CCP2 and anti  $\alpha 36-50$  ( $r_s : 0,0078$  ;  $p = 0,916$ ).



**Table 1: Clinical characteristics of patients**

<b>Number of patients</b>	<b>184</b>
<b>Age (years, mean)</b>	62
<b>Women (%)</b>	75.5
<b>Diagnostic delay (mean, years)</b>	0.9
<b>Age at diagnosis (mean, years)</b>	46.4
<b>Rheumatoid nodules</b>	30/180 (16.6 %)
<b>Smoker (active or previous)</b>	90/180 (50 %)
<b>DAS28 at inclusion</b>	2.44
<b>Major cardiovascular event</b>	15/180 (8.3 %)
<b>Erosive rheumatoid arthritis</b>	64/180 (35.5 %)
<b>Dry eye syndrome</b>	11/167 (6.6 %)
<b>Rheumatoid Factor</b>	121/161 (75%)
<b>Treatment</b>	<b>Good responders/ number treated</b>
<b>TNF-alpha inhibitors</b>	90/137 (65.6 %)
<b>Tocilizumab</b>	37/53 (69.8 %)
<b>Abatacept</b>	24/46 (52.1 %)

**Table 2: AhFibA and five major citrullinated Fibrin peptides**

	Negative	Positive
AhFibA	27/184 (14.67 %)	157/184 (85.33%)
β60–74cit	76/184 (41.30 %)	108/184 (58.70%)
α36–50cit	157/184 (85.33 %)	27/184 (14.67%)
α621–635cit	103/184 (55.98%)	81/184 (44.02%)
α501–515cit	62/184 (33.70 %)	122/184 (66.3%)
α171–185cit	45/184 (24.46 %)	139/184 (75.54%)

Preprint: For Review Only

**Table 3: Association between epitopic specificity of ACPAs and HLA-DRB1 alleles**

		Shared Epitope N=104/155				HLA-DRB1*04:01 N=44/155				HLADRB1*04:04,*04:05, *04:08,*01 N=69/155				HLADRB1*10:01 N=14/155			
		NO (n)	YES (n)	Odds Ratio [CI 95%]	p	NO (n)	YES (n)	Odds Ratio [CI 95%]	p	NO (n)	YES (n)	Odds Ratio [CI 95%]	p	NO (n)	YES (n)	Odds Ratio [CI 95%]	p
<b>β60-74cit</b>	NO (n)	25	40	1.54 [0.80 – 2.98]	0.21	49	16	1.38 [0.68 – 2.84]	0.37	37	28	1.11 [0.58 – 2.13]	0.76	61	4	1.91 [0.60 – 5.72]	0.29
	YES (n)	26	64			62	28			49	41			80	10		
<b>α36-50cit</b>	NO (n)	45	88	1.36 [0.54 – 3.68]	0.54	95	38	0.93 [0.34 – 2.41]	0.90	77	56	1.99 [0.804 – 4.69]	0.14	120	13	0.44 [0.04 – 2.68]	0.42
	YES (n)	6	16			16	6			9	13			21	1		
<b>α621-635cit</b>	NO (n)	23	62	0.55 [0.28 – 1.06]	<b>0.08</b>	55	30	0.46 [0.23 – 0.95]	<b>0.04</b>	45	40	0.80 [0.42 – 1.50]	0.48	79	6	1.70 [0.53 – 5.27]	0.34
	YES (n)	28	42			56	14			41	29			62	8		
<b>α501-515cit</b>	NO (n)	23	28	2.23 [1.10 – 4.55]	<b>0.02</b>	46	5	5.52 [2.00 – 13.64]	<b>0.0003</b>	31	20	1.38 [0.71 – 2.77]	0.35	45	6	0.63 [0.19 – 1.97]	0.40
	YES (n)	28	76			65	39			55	49			96	8		
<b>α171-185cit</b>	NO (n)	15	22	1.55 [0.74 – 3.28]	0.26	30	7	1.96 [0.78 – 5.00]	0.14	22	15	1.24 [0.60 – 2.71]	0.58	35	2	1.65 [0.41 – 7.81]	0.52
	YES (n)	36	82			81	37			64	54			106	10		
<b>Number of specificities</b>	≤3	42	77	1.63 [0.71 – 4.01]	0.25	85	34	0.96 [0.42 – 2.20]	0.92	69	50	1.54 [0.74 – 3.28]	0.25	111	8	2.78 [0.85 – 8.31]	0.07
	>3	9	27			26	10			17	19			30	6		

N = number

**Table 4 : Rheumatoid nodules and Rheumatoid Factor association with peptide reactivity**

		Rheumatoid Nodules (n = 30/180)				Rheumatoid Factor (n = 122/161)			
		NO (n)	YES (n)	Odds Ratio [CI 95%]	p	NO (n)	YES (n)	Odds Ratio [CI 95%]	p
<b>Rheumatoid Factor (n=122/161)</b>	NO (n)	35	3	<b>2.89 [0.88 – 9.52]</b>	<b>0.08</b>				
	YES (n)	97	24						
<b>β60-74cit</b>	NO (n)	63	11	1.25 [0.55 – 2.69]	0.59	15	54	0.79 [0.37 – 1.68]	0.52
	YES (n)	87	19			24	68		
<b>α36-50cit</b>	NO (n)	130	26	0.23 [0.33 – 2.89]	0.99	36	102	2.35 [0.70 – 7.83]	0.17
	YES (n)	20	4			3	20		
<b>α621-635cit</b>	NO (n)	81	19	0.68 [0.32 – 1.53]	0.35	25	68	1.42 [0.66 – 2.88]	0.36
	YES (n)	69	11			14	54		
<b>α501-515cit**</b>	NO (n)	55	6	<b>2.32 [0.95 – 5.80]</b>	<b>0.08**</b>	18	33	<b>2.31 [1.10 – 4.78]</b>	<b>0.026</b>
	YES (n)	95	24			21	89		
<b>α171-185cit</b>	NO (n)	37	7	1.08 [0.45 – 2.75]	0.88	11	30	1.21 [0.56 – 2.68]	0.65
	YES (n)	113	23			28	92		
<b>Number of specificity</b>	≤ 3	119	21	1.65 [0.69 – 3.78]	0.26	35	93	<b>2.73 [0.91 – 7.61]</b>	<b>0.07</b>
	> 3	31	9			4	29		

N= number of patients

NS: not significant.

\*\* High level anti-α501-515cit was significantly associated with rheumatoid nodules

79/184 patients had high level anti- α501-515cit, among them 18 patients had rheumatoid nodules,

61/184 patients did not have high level anti- α501-515cit, of whom 6 patients had rheumatoid nodules.

OR =2.71 [1.00 – 7.16], p= 0.044

**Supplementary table 1 : Clinical characteristics of the HLA-DRB1 genotyped population**

<b>Number of patients</b>	<b>155</b>
<b>Age (years, mean)</b>	61.781
<b>Women (%)</b>	75.817
<b>Diagnostic delay (mean, years)</b>	1.013
<b>Age at diagnosis (mean, years)</b>	46.68
<b>Rheumatoid nodules</b>	26/152 (17.11 %)
<b>Ever smoker</b>	78/153 (50.98 %)
<b>DAS28 at inclusion</b>	2.49
<b>Major cardiovascular event</b>	15/152 (9.87 %)
<b>Erosive rheumatoid arthritis</b>	52/152 (34.21 %)
<b>Mean number of erosions</b>	5.357
<b>Osteoporosis</b>	28/146 (19.18 %)
<b>Dry eye syndrom</b>	11/150 (7.33 %)
<b>treatment</b>	good responders/ number treated
<b>TNF alpha inhibitors</b>	80/117 (68.4%)
<b>Tocilizumab</b>	27/41 (65.8%)
<b>Abatacept good</b>	23/39 (58.9%)

**Supplementary Table 2 : Biological characteristics and serological profile of the genotyped population**

	<b>Negative</b>	<b>Positive</b>
<b>AhFibA</b>	26/155 (16.77 %)	129/155 (83.23 %)
<b>β60–74cit</b>	65/155 (41.94 %)	90/155 (58.06 %)
<b>α36–50cit</b>	132/155 (85.16 %)	23/155 (14.84 %)
<b>α621–635cit</b>	85/155 (54.84 %)	70/155 (45.16 %)
<b>α501–515cit</b>	51/155 (32.90 %)	104/155 (67.10 %)
<b>α171–185cit</b>	37/155 (23.87 %)	118/155 (76.13 %)

Supplementary Table 3: Associations between clinical characteristics and ACPA epitopic specificities

	TNF-alpha inhibitors: good responders (n = 90/137)		Tocilizumab: good responders (n = 37/ 53)		Abatacept: good responders (n = 24/46)		Erosive rheumatoid arthritis (n = 64/180)		Smoker (active or previous) (n = 90/180)	
	Odds Ratio [CI 95%]	p	Odds Ratio [CI 95%]	p	Odds Ratio [CI 95%]	p	Odds Ratio [CI 95%]	p	Odds Ratio [CI 95%]	p
<b>Rheumatoid factors (n= 121/161)</b>	1.13 [0.49 – 2.70]	ns	1.28 [0.35 – 4.81]	ns	0.66 [0.20 – 2.33]	ns	0.91 [0.44 – 1.87]	ns	<b>2.37 [1.10 – 4.78]</b>	<b>0.022</b>
<b>Positivity β60-74cit</b>	1.22 [0.61 – 2.55]	ns	0.79 [0.23 – 2.53]	ns	0.68 [0.22 – 2.39]	ns	1.03 [0.57 – 1.91]	ns	1.45 [0.80 – 2.67]	ns
<b>Positivity α36-50cit</b>	1.96 [0.72 – 5.10]	ns	0.53 [0.13 – 2.34]	ns	4.20 [0.58 – 53.48]	ns	0.67 [0.26 – 1.66]	ns	0.58 [0.25 – 1.31]	ns
<b>Positivity α621-635cit</b>	1.54 [0.74 – 3.18]	ns	0.98 [0.33 – 3.15]	ns	<b>2.92 [0.84 – 9.82]</b>	<b>0.077</b>	0.71 [0.38 – 1.35]	ns	1.26 [0.70 – 2.27]	ns
<b>Positivity α501–515cit</b>	1.03 [0.48 – 2.13]	ns	<b>0.23 [0.05 – 1.07]</b>	<b>0.065</b>	1.43 [0.41 – 5.38]	ns	0.97 [0.51 – 1.79]	ns	1.16 [0.63 – 2.15]	ns
<b>Positivity α171–185cit</b>	0.89 [0.38 – 2.09]	ns	1.21 [0.35 – 4.86]	ns	0.59 [0.17 – 2.15]	ns	1.37 [0.66 – 2.77]	ns	1.44 [0.74 – 2.91]	ns
<b>Number of positivities</b>	<b>2.93 [1.16 – 7.48]</b>	<b>0.025</b>	0.61 [0.16 – 2.16]	ns	<b>4.12 [0.90 – 21.06]</b>	<b>0.086</b>	<b>0.45 [0.19 – 1.04]</b>	<b>0.051</b>	1.56 [0.78 – 3.08]	ns



## “ Au moment d’être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d’être fidèle aux lois de l’honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J’interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l’humanité.

J’informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n’exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l’indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis(e) dans l’intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) à l’intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l’indépendance nécessaire à l’accomplissement de ma mission. Je n’entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J’apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu’à leurs familles dans l’adversité.

Que les hommes et mes confrères m’accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j’y manque. ”

