



**HAL**  
open science

# Association entre le variant rs35705950 du promoteur de MUC5B et la pneumopathie interstitielle diffuse associée à la polyarthrite rhumatoïde

Pierre-Antoine Juge

## ► To cite this version:

Pierre-Antoine Juge. Association entre le variant rs35705950 du promoteur de MUC5B et la pneumopathie interstitielle diffuse associée à la polyarthrite rhumatoïde. Médecine humaine et pathologie. 2019. dumas-03210803

**HAL Id: dumas-03210803**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03210803v1>**

Submitted on 6 May 2021

**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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

## AVERTISSEMENT

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'Etat de docteur en médecine. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt toute poursuite pénale.

*Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 122.4*

*Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 335.2-L 335.10*

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES  
Faculté de Médecine PARIS DESCARTES

Année 2019

N° 130

THÈSE  
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT  
DE  
DOCTEUR EN MÉDECINE

Association entre le variant rs35705950 du promoteur de *MUC5B*  
et la pneumopathie interstitielle diffuse associée à  
la polyarthrite rhumatoïde

Présentée et soutenue publiquement  
le 23 septembre 2019

Par

***Pierre-Antoine JUGE***

Né le 13 avril 1988 à Nantes (44)

Dirigée par M. Le Professeur Philippe Dieude, PU-PH

Jury :

M. Le Professeur Bruno Crestani, PU-PH..... Président

Mme Le Professeur Catherine Boileau, PU-PH

M. Le Professeur Pascal Richette, PU-PH



## REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Bruno Crestani, qui me fait l'honneur de présider ce jury,  
Je vous remercie de m'avoir accompagné dans l'apprentissage de la pneumologie en me soutenant pendant nos différents travaux communs et en m'accueillant dans votre service.  
J'espère pouvoir continuer à nouer des liens entre nos deux spécialités au sein de cet hôpital.

A Madame le Professeur Catherine Boileau,  
Merci de m'avoir accueilli pendant mon stage de Master 2 et merci pour votre aide précieuse qui a rendu ce travail possible.

A Monsieur le Professeur Pascal Richette,  
Merci d'avoir accepté de faire partie de ce jury et de ton soutien pour ces dernières années.  
Merci pour tes conseils.

A Monsieur le Professeur Philippe Dieudé,  
Merci de m'avoir soutenu depuis mon premier semestre. Merci pour toutes les (incroyables) opportunités que vous m'avez offertes et merci de votre confiance. J'ai hâte de rejoindre le service et de poursuivre nos travaux pour de (très) nombreuses années.

Un grand merci à Raphaël Borie qui m'accompagne depuis plusieurs années dans mon cursus médical et scientifique, dans ma vie à Bichat notamment en pneumologie. J'espère pouvoir apprendre encore beaucoup à tes côtés.

Merci à Steven Gazal dont les compétences me sont indispensables.

Merci à Esther pour ton aide, ton soutien. J'espère que ce n'est que le début d'un long travail commun.

Un grand merci à l'ensemble des médecins ayant participé à ma formation. Un grand merci à mes chefs de clinique rhumatologues (Ghislaine, Aurore, Karine, Stéphanie, Aline et Thomas) mais aussi non rhumatologues (Benoît, Sabrina, Nathalie, Claire, Touda, Jennifer, Barouyr, Pierre et Mada). Merci à Sébastien qui m'a tout enseigné (et m'enseigne toujours) de la rhumatologie !



Un très grand merci à mes proches qui m'épaulent jour après jour.

*A ma famille*

Maman, que serais-je devenu sans mon médecin modèle, merci pour tout...

Papa, merci pour ton soutien inconditionnel et sans faille

Anne-Sophie, merci d'être beaucoup plus qu'une sœur malgré nos 8 ans d'écart

Merci à vous trois, sans vous, rien ne serait pareil !

Merci à Mamie, à Catherine, Pierre et Florence, à Clémence, Manon et Zoé. Un merci particulier à Camille qui m'a soutenu tout au long de mes études et à toute sa famille Christian, Jules, Basile et Cacahuète.

*A mes amis*

Aux amis du BB, Dévy, Claudia et Mickaël (et Boubou !!). C'est une chance incroyable que de vous avoir rencontré. J'espère vous suivre pendant longtemps !

A mes compères dermatologues, infectiologues et associés.

Phongiphong et Sab, trop cool de vous avoir ! J'espère encore plein de vacances incroyables.

Nathalie et Benoît (encore !), Dr Leffe, Reyhan, Corentin merci pour tout ! A Julia avec qui je n'ai pas pu être co-chef mais avec qui j'ai pas mal partagé de temps à Bichat quand même ☺

Aux colocs depuis 4 ans, Angèle et Marion. Ces 4 années ont été tellement riches grâce à vous.

Aux amies du collège/lycée et bien plus, Sarah, Raphaële, Lucie et Sarah.

A Giulia, ton accent italien me manque tellement !

A mes amis japonais, à Chihiro et surtout à Hisa et Isamu, ほんまにありがとう !

## TABLES DES MATIERES

<b>1</b>	<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>6</b>
1.1	CARACTERISTIQUES DE L'ATTEINTE PULMONAIRE INTERSTITIELLE DE LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE.....	6
1.1.1	EPIDEMIOLOGIE.....	6
1.1.2	FACTEURS DE RISQUE.....	7
1.1.3	ASPECTS SCANNOGRAPHIQUES ET HISTOLOGIQUES.....	7
1.1.4	PRONOSTIC.....	10
1.1.5	IMPACT DES TRAITEMENTS DE LA PR SUR LA PID.....	11
1.1.6	PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE.....	12
1.2	CARACTERISTIQUES COMMUNES ENTRE PR-PID ET FIBROSE PULMONAIRE IDIOPATHIQUE.....	13
1.3	LE VARIANT DU PROMOTEUR DE <i>MUC5B</i> rs35705950.....	15
<b>2</b>	<b>MATERIEL ET METHODES.....</b>	<b>18</b>
2.1	POPULATION .....	18
2.2	GENOTYPAGE .....	19
2.3	ANALYSES HISTOLOGIQUES.....	20
2.4	ANALYSES STATISTIQUES.....	20
<b>3</b>	<b>RESULTATS.....</b>	<b>23</b>
3.1	POPULATIONS.....	23
3.2	CARACTERISTIQUES DES POPULATIONS.....	23
3.3	<i>MUC5B</i> rs35705950 ET RISQUE DE PR-PID .....	26
3.4	<i>MUC5B</i> rs35705950 ET RISQUE DE PID AU COURS DE LA PR .....	29
3.5	<i>MUC5B</i> rs35705950 ET RISQUE DE PIC AU COURS DE LA PR.....	29
3.6	LOCALISATION DE L'EXPRESSION DE <i>MUC5B</i> CHEZ LES PATIENTS PR-PID .....	34

3.7	PHASE EXPLORATOIRE D'UNE ETUDE D'ASSOCIATION DE 12 AUTRES VARIANTS GENETIQUES A RISQUE DE FPI DANS LA PR-PID.....	35
<b>4</b>	<b>DISCUSSION .....</b>	<b>38</b>
<b>5</b>	<b>REFERENCES .....</b>	<b>43</b>
6	ANNEXE 1. Article original " <i>MUC5B</i> promoter variant and Rheumatoid Arthritis with Interstitial Lung Disease", Juge <i>et al</i> , New England Journal of Medicine, 2018 .....	47
7	ANNEXE 2. Editorial, "Breathing new life into Interstitial Lung Disease in Rheumatoid Arthritis", Gregersen <i>et al</i> , New England Journal of Medicine, 2018 .....	58

## 1 INTRODUCTION

### 1.1 CARACTERISTIQUES DE L'ATTEINTE PULMONAIRE INTERSTITIELLE DE LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE

#### 1.1.1 EPIDEMIOLOGIE

La prévalence réelle de l'atteinte pulmonaire interstitielle diffuse (PID) associée à la polyarthrite rhumatoïde (PR) reste actuellement difficile à évaluer. En effet, les outils diagnostiques utilisés (scanner thoracique à haute résolution (TDM-HR), radiographie thoracique) ont des performances distinctes et les critères définissant la PR-PID (patients symptomatiques ou non, anomalies aux explorations fonctionnelles pulmonaires (EFR)) varient en fonction des études. Quelques données récemment publiées permettent cependant d'en estimer la fréquence. Ainsi, plusieurs études réalisant une imagerie pulmonaire par TDM-HR systématique chez patients atteints de PR mettaient en évidence une PID chez 45 à 61% des cas<sup>1,2</sup>. Il est important de noter que les patients présentant des anomalies scannographiques n'étaient pas tous symptomatiques sur le plan pulmonaire<sup>1,2</sup>. Une détection basée sur la présence de signes cliniques (toux sèche, dyspnée ou anomalies à l'auscultation) trouve une prévalence bien plus faible proche de 10%<sup>3</sup>. Si la prévalence des manifestations extra-articulaires de la PR semble diminuer, probablement grâce à un meilleur contrôle de la maladie, la prévalence de la PR-PID semble stable voire en augmentation<sup>4-6</sup>. Cette apparente augmentation de la PID au cours de la PR s'explique probablement par l'utilisation de moyens diagnostiques plus performants tels que le TDM-HR et ce, de manière plus systématique qu'auparavant. Toutefois, une possible iatrogénicité des traitements de la PR (dont les biothérapies) ne peut être exclue.

### 1.1.2 FACTEURS DE RISQUE

Plusieurs facteurs de risques ont été associés à la survenue d'une PR-PID (Tableau 1). L'âge constitue un facteur de risque ainsi que le sexe masculin<sup>4,7-13</sup>. Bien qu'inconstamment identifié dans les études, l'activité de la PR et la présence d'anticorps anti protéines citrullinées (ACPA), notamment à taux élevés, ont également été associées à la PR-PID<sup>7,9-11,14</sup>. Une association entre PR-PID et certains sous-types d'ACPA, comme les anticorps ciblant l' $\alpha$ -énolase citrullinée, a été rapportée<sup>15,16</sup>. Concernant les facteurs environnementaux, le tabagisme semble être un facteur de risque de survenue d'une PID chez les patients PR, notamment pour une intoxication supérieure à 25 PA<sup>12,17,18</sup>. Sur le plan génétique, une association entre la PR-PID et certains allèles du *HLA-DRB1* ou encore certains variants du gène *PADI4* a été suggérée dans la population asiatique<sup>19-21</sup>. Cependant, à ce jour, ces résultats n'ont pas fait l'objet d'études de réplification indépendantes dans des populations non-asiatiques.

**Tableau 1. Facteurs de risque rapportés de la PR-PID**

<b>Facteurs de risque – Haut niveau de preuve</b>	<b>Facteurs de risque – Faible niveau de preuve</b>
Âge <sup>7,10,12</sup> Sexe masculin <sup>7,12,13</sup> Tabagisme <sup>12</sup>	Activité de la maladie <sup>7,10</sup> Positivité pour les ACPA <sup>11</sup> Taux d'ACPA <sup>9</sup> Anticorps anti $\alpha$ -énolase citrullinée <sup>15,16</sup> Génétique ( <i>HLA-DRB1</i> , <i>PADI4</i> ) <sup>19-21</sup>

ACPA : anticorps anti-protéines citrullinées

### 1.1.3 ASPECTS SCANNOGRAPHIQUES ET HISTOLOGIQUES

La PR-PID inclue différents sous-types de pneumopathies infiltrantes ayant un pronostic et une réponse thérapeutique distincts<sup>22</sup>. Si l'histologie reste le gold standard

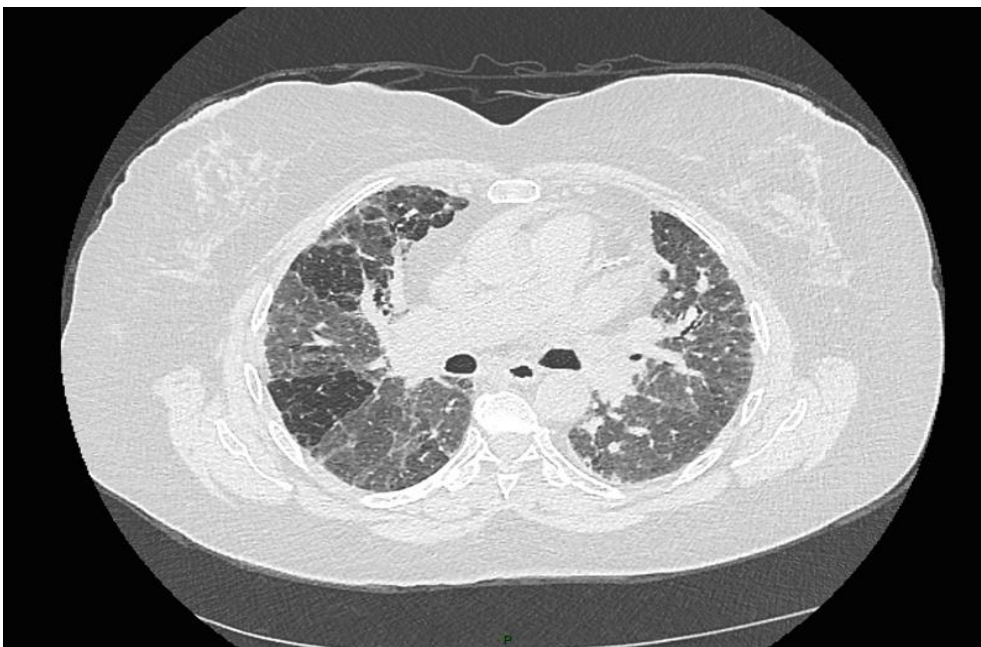
pour différencier les sous-types de PID, il est admis qu'il existe une bonne corrélation entre l'histologie et l'aspect scannographique pulmonaire. Ainsi, au cours de la PR-PID, les données d'imagerie par TDM-HR permettent, pour la plus part des patients, de classer le type de PID. La réalisation d'une biopsie pulmonaire reste donc exceptionnelle.

L'aspect le plus fréquemment observé est celui de pneumopathie interstitielle commune (PIC) présent chez 40 à 62% des patients<sup>23-25</sup>. Il s'agit d'une atteinte peu inflammatoire, caractérisée par de la fibrose avec prolifération de fibroblastes et myofibroblastes. Sur la TDM-HR, cet aspect est défini par un aspect en rayon de miel, la présence de réticulations et de bronchectasies par tractions, avec une prédominance aux bases. On ne trouve pas ou peu de plages en verre dépoli (Figure 1). C'est l'aspect classiquement observé au cours d'une autre maladie pulmonaire, la fibrose pulmonaire idiopathique (FPI). Le deuxième type de PR-PID le plus fréquent est la pneumopathie interstitielle non spécifique (PINS) observée chez 11 à 32% des patients<sup>23,24,26</sup>. Par opposition à la PIC, La PINS est caractérisée par un infiltrat inflammatoire avec peu de fibrose. L'aspect de PINS sur le TDM-HR correspond à des opacités en verre dépoli associées à des réticulations et des bronchectasies par traction prédominantes aux bases sans rayon de miel (Figure 2). Il est important de noter que ces deux aspects peuvent coexister chez un même patient, c'est l'aspect de PIC qui devrait alors être pris en compte, compte-tenu de la sévérité associée.



**Figure 1. Aspect scannographique typique de PIC chez un patient atteint de PR-PID.**

L'image montre un aspect de rayon de miel prédominant aux bases et en sous-pleural, des réticulations et des bronchectasies par traction. Il n'y a que peu de plages de verre dépoli, limitées aux zones de fibroses. PIC : pneumopathie interstitielle commune, PR-PID : pneumopathie interstitielle diffuse associée à la polyarthrite rhumatoïde.



**Figure 2. Aspect scannographique typique de PINS chez un patient atteint de PR-PID.**

L'image met en évidence des opacités en verre dépoli ainsi que des réticulations. PINS : pneumopathie interstitielle non spécifique, PR-PID : pneumopathie interstitielle diffuse associée à la polyarthrite rhumatoïde.

Enfin, la pneumopathie organisée (PO), qui correspond à un aspect histologique très inflammatoire avec bourgeons endo-alvéolaires, est plus rare et peut coexister avec une PINS. D'autres types d'atteintes telles que la pneumopathie lymphoïde interstitielle ou la pneumopathie interstitielle desquamative sont anecdotiques au cours de la PR<sup>27</sup>.

#### 1.1.4 PRONOSTIC

La PID est une manifestation sévère de la PR. En effet, elle représente la seconde cause de mortalité au cours du rhumatisme<sup>4,24</sup>. Elle serait responsable de 6.8% des décès chez les femmes et de 9.8% de décès chez les hommes atteints de PR<sup>3</sup>. La médiane de survie après diagnostic d'une PID clinique a été estimée par plusieurs études entre 3 et 10 ans<sup>3,7,28,29</sup>. Une récente étude rétrospective réalisée à partir de registres danois observait un taux de mortalité de 60.1% à 10 ans<sup>30</sup>. L'ensemble des facteurs pronostiques de la PR-PID sont résumés dans le tableau 2. L'aspect de PIC est particulièrement sévère et associé à une surmortalité comparé aux autres aspects scannographiques<sup>14,28-31</sup>. Une étude rétrospective anglaise évaluait ce sur-risque (« PR-PIC » vs « PR-PID non PIC ») à 3.9<sup>14</sup>. Plusieurs autres facteurs ont été associés à la mortalité chez les patients PR-PID : le sexe masculin, un âge avancé, l'activité de la PR, ainsi que certains paramètres EFR (DLCO et capacité vitale forcée diminuées)<sup>17,31</sup>.



**Tableau 2. Survie médiane et facteurs de risque indépendamment associés à la mortalité en analyse multivariée dans la PR-PID**

Étude (Année)	Taille de l'échantillon	Survie médiane années, (IC <sub>95%</sub> )	Facteurs de risque associés à la mortalité	Hazard Ratio (IC <sub>95%</sub> /P)
Dixon <i>et al</i> <sup>32</sup> (2010)	360	ND	Age (par décennie) Score d'activité PR (DAS28)	2,28 (1,64 – 3,15) 1,43 (1,11 – 1,85)
Kim <i>et al</i> <sup>22</sup> (2010)	82	3,9 (0,3 – 7,5)	Sexe féminin DLCO% <sub>théorique</sub> au diagnostic Aspect de PIC (TDM-HR)	0,30 (P=0,008) 0,96 (P=0,003) 2,34 (P=0,05)
Koduri <i>et al</i> <sup>10</sup> (2010)	52	3 (ND)	Age au diagnostic	1,04 (1,00-1,09)
Solomon <i>et al</i> <sup>33</sup> (2013)	48		Age (par année) Fibrose (biopsie pulmonaire)	1,04 (P=0,01) 2,1 (P=0,02)
Solomon <i>et al</i> <sup>31</sup> (2016)	137	10,3 (8,2 – 12,8)	Age (>64,7 ans) Tabagisme CVF (baisse de 10% par rapport à la CVF% <sub>théorique</sub> )	1,06 (1,03 – 1,10) 2,05 (1,03 – 4,08) 1,36 (1,16 – 1,60)

PR : polyarthrite rhumatoïde, DLCO : diffusion lente du monoxyde de carbone, CVF : capacité vitale forcée, ND : non disponible

### 1.1.5 IMPACT DES TRAITEMENTS DE LA PR SUR LA PID

Il est actuellement impossible de déterminer l'impact réel des traitements utilisés dans la PR sur l'apparition ou l'évolution d'une PID. En effet, de nombreux biais interviennent et compliquent l'interprétation des résultats. La plupart des études sont rétrospectives. De plus, l'absence de TDM-HR pré-thérapeutique limite la détection des PID asymptomatiques qui pourraient être présentes avant l'introduction du traitement.

Le méthotrexate (MTX) est associé au risque de survenue d'une pneumopathie aigüe d'hypersensibilité. Cet effet secondaire est rare : sa prévalence est estimée à environ 0.8%<sup>34</sup>. A ce jour, il n'existe aucun argument solide permettant d'incriminer le MTX dans la survenue ou l'aggravation d'une PID préexistante. Une étude mexicaine incluant 78 patients avec PR-PID observait par ailleurs une meilleure survie chez les patients traités par MTX en

comparaison de ceux ne recevant pas du MTX<sup>26</sup>. Il ne semble donc pas y avoir de contre-indication systématique à l'utilisation du MTX en cas de PR-PID. Seul un état fonctionnel respiratoire très dégradé sur la base des EFRs ou de l'aspect scannographique et après discussion avec un pneumologue référent pourrait faire discuter une contre-indication.

Concernant les anti-TNF $\alpha$ , si aucune étude ne permet de conclure avec certitude un potentiel effet délétère sur la PR-PID, des cas de PID (de novo ?) rapportées dans d'autres pathologies que la PR comme la maladie de Crohn ou le psoriasis seraient en faveur d'une imputabilité des anti-TNF $\alpha$  comme classe thérapeutique<sup>35,36</sup>. Une étude espagnole rétrospective incluant 122 cas de PR-PID traités par anti-TNF $\alpha$ , trouvait un taux de mortalité particulièrement élevé allant jusqu'à 60% chez les patients présentant une PID préexistante<sup>37</sup>. Cependant, malgré un nombre élevé de patients PR traités par anti-TNF $\alpha$ , il n'existe à ce jour aucun signal d'alerte sur un possible risque augmenté de développer une PID. Des futures études sont donc nécessaires afin de déterminer l'impact réel des anti-TNF $\alpha$  sur la PR-PID.

L'effet des autres biothérapies sur la PID reste également indéterminé. Quelques cas de PO ont été décrits sous rituximab (RTX), survenant principalement après la 4<sup>ème</sup> cure<sup>38</sup>. Une récente étude rétrospective espagnole incluant 63 patients PR-PID traités par abatacept suggérait une possible efficacité du traitement avec près de 25% des patients s'améliorant et 66% des patients stabilisé après un suivi moyen de 9,4 mois<sup>39</sup>.

#### *1.1.6 PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE*

A ce jour, aucune étude interventionnelle ne permet de conclure à un possible effet bénéfique des traitements de la PR sur la PR-PID. Ainsi, aucune recommandation sur la prise en charge des patients PR-PID n'est à ce jour disponible. Une corticothérapie systémique

associée à un immunosuppresseur (cyclophosphamide, azathioprine, ...) reste le traitement de référence en cas de PID avec retentissement important, ce d'autant qu'il s'agit d'une forme inflammatoire (PINS, plus rarement PO)<sup>40,41</sup>. L'introduction d'un tel traitement doit systématiquement se faire en concertation multidisciplinaire avec un pneumologue, un radiologue et un anatomo-pathologiste aux vues de l'examen clinique, des données d'EFR, du TDM-HR, voire des données histologiques. Les traitements immunosuppresseurs semblent toutefois plus efficaces chez les patients présentant un aspect de PINS comparé à la PIC, où la fibrose prédomine par rapport à l'inflammation.

L'utilisation préférentielle de certains traitements de la PR chez les patients présentant une PR-PID reste débattue, avec comme décrit précédemment, une possible amélioration de la survie sous MTX et un potentiel effet bénéfique de l'abatacept<sup>39</sup>. Du fait de l'absence d'étude contrôlée, on ne peut actuellement recommander ou contre-indiquer l'utilisation d'une biothérapie particulière chez ces patients.

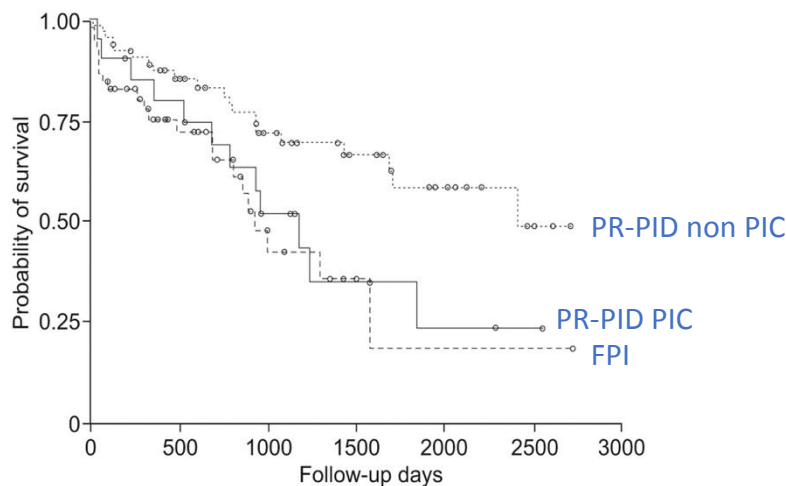
## 1.2 CARACTERISTIQUES COMMUNES ENTRE PR-PID ET FIBROSE PULMONAIRE

### IDIOPATHIQUE

Comparé aux atteintes pulmonaires observées lors des autres maladies auto-immunes, la PR-PID partage plusieurs caractéristiques avec la FPI comme certains facteurs de risques environnementaux comme le tabac ou la silice<sup>14,17</sup>, la prévalence élevée de l'aspect de PIC au TDM-HR<sup>22</sup>, le caractère progressif de la PID et le pronostic très sévère (Figure 3)<sup>22,31</sup>.

Si l'aspect de PIC est classiquement observé dans la FPI, il est important de noter que la présence d'une PIC chez un patient atteint de PR ne devrait pas être considérée comme la

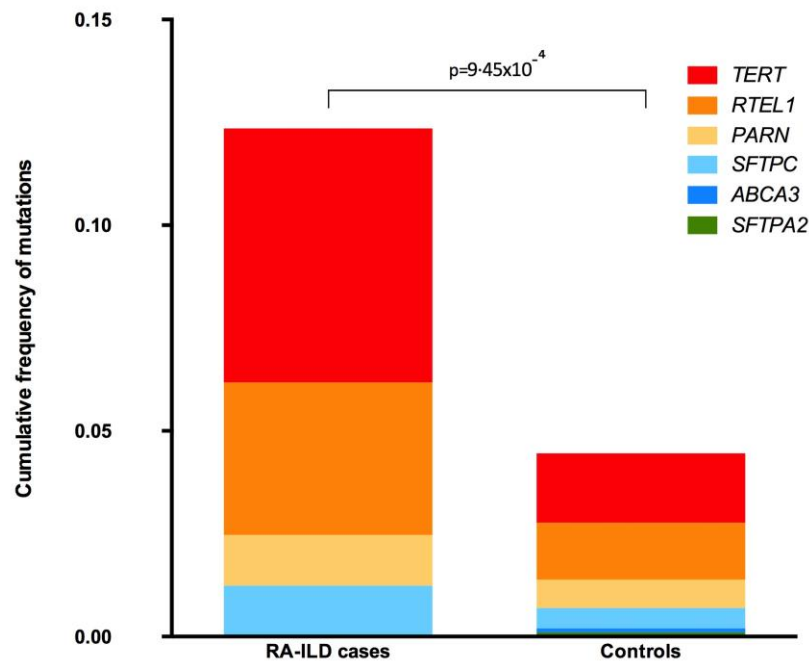
coïncidence d'une FPI et d'une PR. En effet, l'utilisation des données épidémiologiques concernant la PR, la PR-PID et la FPI montre que la prévalence de la PIC est 3,4 à 12,1 fois plus élevée chez les patients atteints de PR que celle de la FPI dans la population générale française<sup>12,13,42,43</sup>. Il s'agit donc de deux maladies distinctes.



**Figure 3. Courbe de survie de Kaplan Meyer des patients PR-PID en fonction de leur aspect au TDM-HR et de patients FPI (D'après Kim *et al*<sup>22</sup>)**  
 PIC : pneumopathie interstitielle

Du fait des nombreuses caractéristiques phénotypiques communes entre PR-PID et FPI, nous avons émis l'hypothèse d'un terrain génétique partagé par ces deux pathologies. Cette hypothèse a permis la réalisation d'un premier travail utilisant des données de Whole Exome Sequencing (WES) de patients PR-PID comparées à celles d'un groupe témoins d'individus sains. Dans cette étude, nous observons un excès de mutations chez les patients PR-PID dans les gènes *TERT*, *RTEL1*, *PARN* et *SFTPC*, précédemment liés à des formes familiales de fibroses pulmonaires suggérant une architecture génétique partagée entre ces deux pathologies (Figure 4)<sup>8</sup>. Cependant, l'absence de groupe témoin intra-cas (patients PR ne présentant pas de PID) ne permettait pas d'exclure formellement un rôle de ces mutations dans le déterminisme de la PR. De plus, cette étude de WES ne permettait pas

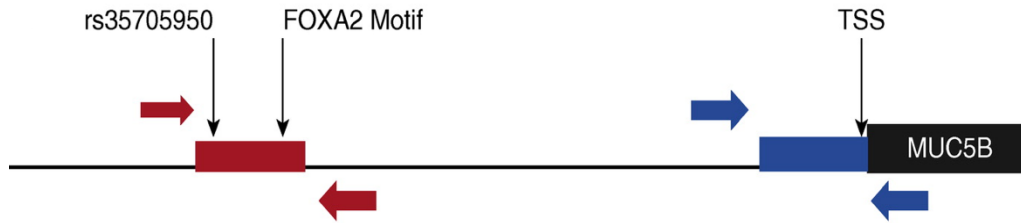
l'exploration du principal facteur de risque génétique de la FPI, le variant commun de *MUC5B* rs35705950, non situé en position exonique.



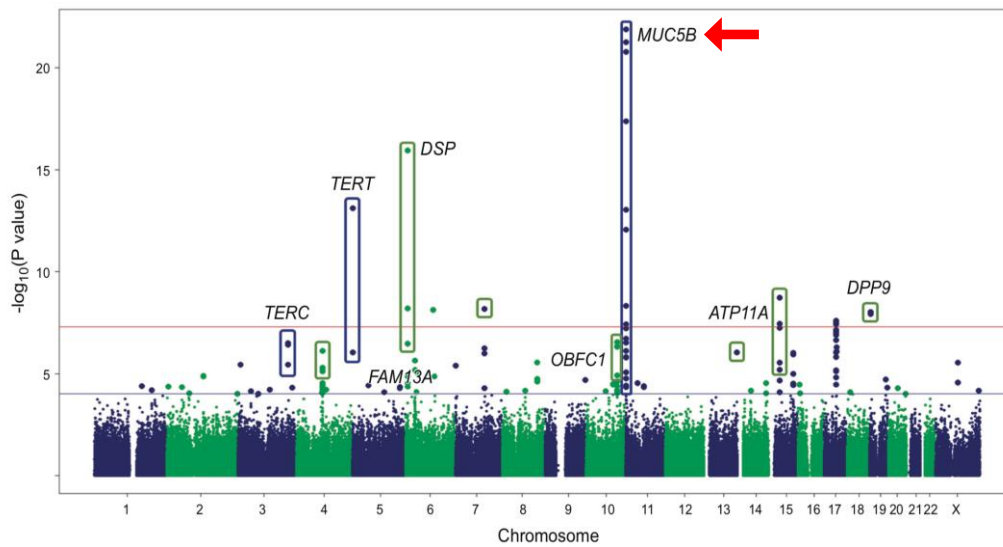
**Figure 4** Excès de mutations au sein de gènes identifiés dans des formes familiales de fibrose pulmonaire dans une population de PR-PID comparé à une population témoin (D'après Juge *et al*<sup>8</sup>)

### 1.3 LE VARIANT DU PROMOTEUR DE *MUC5B* rs35705950

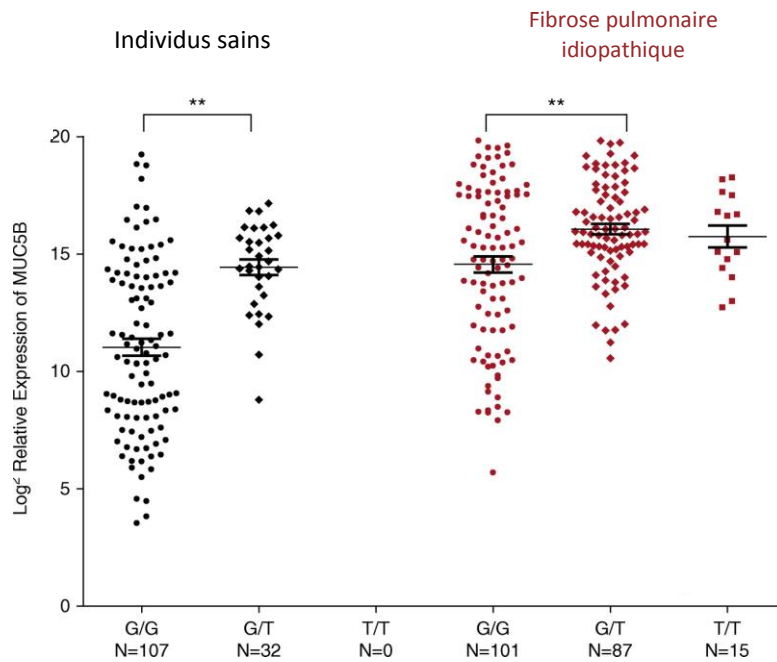
Le single nucleotide polymorphism (SNP) rs35705950 G>T est situé dans le promoteur du gène codant pour la Mucine 5B (*MUC5B*) (Figure 5). Il s'agit du facteur de risque génétique le plus important de la FPI (Figure 6). En effet, ce variant est observé chez près de 40% des cas de FPI, représentant ainsi environ 30% du risque de développer la maladie<sup>44-46</sup>. Le variant bi-allélique *MUC5B* rs35705950 est fonctionnel car une augmentation de l'expression de *MUC5B* au niveau du parenchyme pulmonaire est observée chez les porteurs de l'allèle à risque (T), parmi des témoins sains comme parmi des patients atteints de FPI (Figure 7)<sup>44,47</sup>.



**Figure 5. Gène *MUC5B*, localisation du variant rs35705950 (D'après Helling et al<sup>47</sup>)**  
Le variant rs35705950 du promoteur de *MUC5B* est situé au sein d'un enhancer



**Figure 6. Résultat d'une étude d'association pangénomique réalisée dans la FPI (D'après Evans et al<sup>48</sup>).** On notera que l'association la plus significative est située sur le chromosome 11 au locus *MUC5B* (flèche).



**Figure 7** Expression pulmonaire de MUC5B en fonction du génotype du variant *MUC5B* rs35705950 chez des individus sains et chez des patients atteints de FPI (D'après Seibold et al<sup>44</sup>)

Devant les résultats de notre premier travail, nous avons émis l'hypothèse que le promoteur du variant de *MUC5B* pourrait également contribuer au risque de développer une PID chez les patients atteints de PR. Afin de tester cette hypothèse, nous avons réalisé une étude génétique d'association cas-témoins multi-ethnique entre le variant *MUC5B* rs35705950 et la PR-PID.

## 2 MATERIEL ET METHODES

### 2.1 POPULATION

Cette étude a comporté une étape de découverte en population française européenne caucasienne suivie d'une étape de répliation multi-ethnique incluant des patients provenant de six pays différents (Chine, Grèce, Japon, Mexique, Pays-Bas et États-Unis). Ces deux étapes ont inclus des patients atteints de PR avec ou sans PID ainsi que des individus témoins ne présentant pas de maladie pulmonaire ou auto-immune/inflammatoire.

Les patients français atteints de PR-PID inclus dans l'étape de découverte provenaient d'un réseau national dédié à l'étude de la PR-PID<sup>8</sup>. Les patients grecs atteints de PR-PID ont été inclus par les services de Pneumologie et de Rhumatologie de l'université d'Athènes « Attikon » et le service de Pneumologie de l'hôpital de Héraklion. Les patients néerlandais appartenaient à une cohorte de PR-PID du service spécialisé dans les pathologies pulmonaires interstitielles de la clinique St Antonius, Nieuwegein. L'ensemble des patients inclus dans les centres européens présentaient des ancêtres européens caucasiens. Les patients américains étaient répartis en deux populations. La population USA-1 était constituée de patients PR-PID provenant des services spécialisés dans les pathologies pulmonaires interstitielles des Universités de Californie, San Francisco, de la Mayo Clinique, Rochester, du National Jewish Health Hospital et du Brigham and Women's Hospital. Les patients PR-nonPID de la population USA-1 provenaient de la cohorte de patients PR de l'université du Colorado, Denver. La population USA-2 correspondait aux patients inclus dans une étude précédemment publiée rapportant une association entre *MUC5B* rs35705950 et la PR-PID<sup>49</sup>. La population mexicaine incluait des patients PR avec ou sans PID, tous d'ancêtres mexicains mestizo, provenant du service de Rhumatologie et de Pneumologie du



Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, Mexico City. Enfin, les populations asiatiques provenaient d'un réseau japonais de PR-PID et de l'université de Médecine de Nanjing, Chine.

L'ensemble des patients inclus atteints de PR répondaient aux critères 2010 de l'European League Against Rheumatism et de l'American College of Rheumatology (EULAR-ACR) et/ou aux critères 1987 de l'ACR pour la PR<sup>50,51</sup>. Le statut PID (oui/non) était déterminé chez l'ensemble des patients atteints de PR à l'aide d'un TDM-HR thoracique relu dans chaque centre participant par un lecteur expérimenté, à l'exception de la population USA-1 où le statut PR-non PID était déterminé par auto-déclaration. Pour les patients PR-PID, l'aspect scannographique de la PID était classé en PIC certaine, PIC possible ou incompatible avec une PIC selon les critères internationaux<sup>52</sup>. La lecture des scanners a été réalisée en aveugle des données génotypiques.

Les comités d'éthiques de chaque institution ont approuvé le protocole de l'étude et chaque patient a fourni un consentement éclairé.

## 2.2 GENOTYPAGE

Le génotypage du variant de *MUC5B* rs35705950 a été effectué par méthode Taqman (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) comme décrit précédemment<sup>44</sup>, soit par séquençage Sanger, soit par imputation à partir d'études d'association pangénomique.

L'étude exploratrice des 11 autres variants associés à la FPI situés dans les régions 3q26, 4q22, 5p15, 6p21.3, 6p24, 7q22, 10q24, 11p15.5, 13q34, 15q14-15 et 19p13<sup>46,53,54</sup> ont été génotypés par qPCR Taqman (Thermo Fisher Scientific, California) selon les instructions du fabricant.

## 2.3 ANALYSES HISTOLOGIQUES

Afin de déterminer si MUC5B était exprimé dans les tissus pulmonaires des patients PR-PID, nous avons analysé des coupes d'explants pulmonaires provenant de 9 patients atteints de PR-PID obtenus lors de transplantations pulmonaires (University of California, San Francisco) que nous avons comparé à des biopsies pulmonaires provenant de 6 patients témoins ne présentant pas de PID et de 2 patients présentant une PID sans rapport avec *MUC5B* (Pneumopathie Interstitielle Desquamative, provenant du NHLBI Lung Tissue Research Consortium). Les tissus ont été fixés dans la formaline, incorporés dans la paraffine et coupés en coupes de 4 µm. Ces coupes ont ensuite été déparaffinées et réhydratées. Une détection de MUC5B par immunomarquage a été effectuée en bloquant les coupes par du sérum de cheval normal (Normal Horse Serum) pendant 1 heure et en les incubant avec des anticorps primaires dirigés contre MUC5B (1:4000, Santa Cruz, Dallas, TX) ou des anticorps IgG de lapin (1:4000, EMD Millipore Corp., Burlington, MA) pour les contrôles. Un anticorps secondaire marqué avec du HRP (ImmPRESS HRP Reagent kit, VectorLabs, Burlingame, CA) a été appliqué pendant 45 minutes. Les coupes ont ensuite été révélées en utilisant un kit de peroxydase de raifort (HRP) (Vector Laboratories) afin d'obtenir un produit de réaction de couleur brune. Les coupes ont été lues grâce à un scanner de lame Aperio CS2 (Leica, Buffalo Grove, IL).

## 2.4 ANALYSES STATISTIQUES

Tout d'abord, les caractéristiques des patients PR-PID et des patients PR-non PID ont été comparées par régression logistique sans covariables (résultats bruts) puis ajustés pour le sexe et la population d'origine (résultats ajustés).

Le calcul de la puissance de détection pour l'étape de découverte a été réalisé à l'aide du logiciel Quanto v1.2.4 (<http://biostats.usc.edu/Quanto.html>). En considérant une population incluant 118 cas de PR-PID et 1229 témoins, un OR de 8,3, la puissance de détection d'une association entre le phénotype PR-PID et le variant de *MUC5B* rs35705950 était supérieure à 99%. Dans des conditions similaires, la puissance de détection d'un échantillon de 118 PR-PID et 105 PR-non PID était supérieure à 98%.

L'ensemble des tests d'association a été effectuée par régression logistique sans covariables (résultats bruts) et avec ajustement pour le sexe, l'âge à l'inclusion, le statut tabagique et la population d'origine. Pour chaque test d'association avec le variant de *MUC5B* rs35705950, le meilleur modèle génétique (récessif, additif ou dominant) a été évalué à l'aide des critères d'information d'Akaike<sup>55</sup>. L'interaction entre le variant *MUC5B* rs35705950 et le tabac a été testé par régression logistique. Les comparaisons « PR-PIC vs PR-non PID » et « PR-non PIC vs PR-non PID » ont été réalisées à l'aide d'un z-test. Toutes les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel R 3.1.2. Les figures ont été créées à partir du logiciel Graphpad Prism 7.0. Les valeurs de  $P < 0.05$  étaient considérées comme statistiquement significatives.

Le calcul de la puissance de détection pour les 13 variants associés à la FPI (*MUC5B* rs35705950 et 12 autres variants associés à la FPI) a été effectué à l'aide du logiciel Quanto v1.2.4 (<http://biostats.usc.edu/Quanto.html>) en utilisant les fréquences alléliques et les OR rapportés dans les publications correspondantes. Nous avons fixé la prévalence de la PID dans la PR à 10% et un seuil significatif pour un test bilatéral à 0.05. A titre indicatif, le

nombre de patients à inclure nécessaire conférant une puissance de détection de 80% pour chacun des variants a été calculé.

### 3 RESULTATS

#### 3.1 POPULATIONS

Cette étude d'association génétique cas-témoins a inclus 620 cas de PR-PID, 614 cas de PR-non PID et 5448 témoins sains (Tableau3). La population de découverte a inclus 118 cas de PR-PID, 105 cas de PR-non PID et 1229 témoins sains. L'étape de répliation multi-ethnique a inclus 502 cas de PR-PID, 509 cas de PR-non PID et 4219 témoins sains.

#### 3.2 CARACTERISTIQUES DES POPULATIONS

Comparés aux patients PR-non PID, les patients PR-PID était plus fréquemment des hommes, plus âgés avec une intoxication tabagique plus fréquente (54,7% vs 36,1%) (Tableau 4). Cependant, après ajustement sur le sexe, la relation entre PR-PID et le tabagisme n'était plus statistiquement significative (Tableau 4). Après ajustement, les patients PR-PID et PR-non PID ne présentaient pas de différences concernant la positivité pour le facteur rhumatoïde (FR) et/ou les anticorps anti-protéines citrullinées (ACPA), le statut érosif de la PR, l'exposition au MTX ou la durée moyenne de la PR. Au sein de la population PR-PID, 41% des patients présentaient un aspect de PIC ou de PIC possible sur le TDM thoracique HR.

**Tableau 3. Aperçu des différentes populations incluses dans cette étude**

	<b>Ancêtres</b>	<b>PR-PID</b>	<b>PR-non PID</b>	<b>Témoins</b>
<b>France (découverte)</b>	Européens	118	105	1229
<b>Grèce</b>	Européens	56	-	1795
<b>Pays-Bas</b>	Européens	40	-	249
<b>USA-1</b>	Européen-américains (NHW)	99	68	500
<b>USA-2</b>	Européen-américains (NHW)	48	72	-
<b>Mexique</b>	Hispaniques	55	69	347
<b>Japon</b>	Asiatiques de l'Est	182	300	315
<b>Chine</b>	Asiatiques de l'Est	22	-	1013
<b>Réplication Multi-Ethnique</b>	-	502	509	4219
<b>Analyse Combinée</b>	-	620	614	5448

PR : polyarthrite rhumatoïde, PID : pneumopathie interstitielle diffuse, NHW : non-Hispanic white

**Tableau 4. Caractéristiques de patients atteints de polyarthrite rhumatoïde (PR) à l'inclusion**

Caractéristiques	PR-PID (N=620)	PR-non PID (N=614)	P brutes	P ajustées*
Femme — no. (%)	345/565 (61,1)	446/540 (82,6)	$8,12 \times 10^{-15}$	$3,7 \times 10^{-12**}$
Age à l'inclusion – années	69,0±10,8	60,4±12,6	$1,20 \times 10^{-24}$	$1,3 \times 10^{-21}$
Age au début de la PR – années	55,7±14,6	45,7±13,5	$7,0 \times 10^{-23}$	$5,6 \times 10^{-14}$
Durée de la PR — années	13,3±11,5	14,8±10,2	0,034	0,38
Age au début de la PID – années	62,7±11,8			
Durée de la PID — années	4,3±4,0			
Tabagisme — no. (%)	282/516 (54,7)	168/465 (36,1)	$7,59 \times 10^{-9}$	0,53
Tabagisme — consommation (paquet-année)	28,0±21,8	22,4±30,7	0,07	0,37
Tabagisme actif — no. (%)	46/415 (11,1)	67/463 (14,5)	0,14	0,06
Tabagisme actif — consommation (paquet-année)	33,0±26,6	23,9±19,7	0,08	0,42
Utilisation du méthotrexate† — no. (%)	260/318 (81,8)	142/153 (92,8)	$2,17 \times 10^{-3}$	0,69
Manifestations de la PR				
Positivité pour les ACPA et/ou le RF — no. (%)	449/506 (88,7)	446/468 (95,3)	$1,32 \times 10^{-3}$	0,72
Statut érosif — no. (%)	224/482 (46,5)	274/469 (58,4)	$2,33 \times 10^{-4}$	0,30
Aspect scannographique de la PID				
PIC et PIC possible — no. (%)	207/505 (41,0)			
Incompatible avec une PIC — no. (%)	298/505 (59,0)			
Explorations fonctionnelles respiratoires				
CVF % de la valeur théorique	78,2±25,0			
DLCO % de la valeur théorique	57,6±23,4			
CPT % de la valeur théorique	81,3±20,3			

PR : polyarthrite rhumatoïde, PID : pneumopathie interstitielle diffuse, ACPA : anticorps anti-protéines citrullinées, FR : facteur rhumatoïde, PIC : pneumopathie interstitielle commune, CVF : capacité vitale forcée, DLCO : capacité de diffusion du monoxyde de carbone, CPT : capacité pulmonaire totale.

\* P ajustés pour le sexe et la population d'origine

\*\* P ajusté pour la population d'origine

† Afin d'éviter les biais de prescriptions liés à la survenue d'une PID, l'exposition au méthotrexate a été comptabilisée en ne tenant compte que la période précédant le diagnostic de PID

### 3.3 *MUC5B* rs35705950 ET RISQUE DE PR-PID

Dans la population de découverte, la fréquence de l'allèle mineure (minor allele frequency, MAF) du variant *MUC5B* rs35705950 était de 10,9% chez les témoins sains et de 32,6% chez les patients PR-PID et de 12,9% chez les patients PR-non PID. La MAF de rs35705950 était en accord avec les données 1000G et ExAC en population Européenne non-Finlandaise (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs35705950>). Ce variant était à l'équilibre de Hardy-Weinberg dans chaque sous-groupe étudié. Il n'y avait aucune différence significative concernant la fréquence du variant du promoteur de *MUC5B* entre les patients PR-non PID et les témoins pour chaque population étudiée (population de découverte, population multi-ethnique et analyse combinée) (Tableau 5 ; Figure 8A). Ces résultats suggèrent l'absence de contribution de *MUC5B* rs35705950 au risque de PR. Dans la population de découverte, après ajustement sur le sexe, nous avons détecté une association statistiquement significative entre *MUC5B* rs35705950 et la PR-PID lorsque nous comparions la population PR-PID aux témoins sains ( $OR_{aj}=3,8$  ;  $IC_{95\%}$ , 2,8 – 5,2 ;  $P=9,7 \times 10^{-17}$ ) (Tableau 5). L'étape de réplification multi-ethnique confirmait les résultats observés à l'étape de découverte ( $OR_{aj}=5,5$  ;  $IC_{95\%}$ , 4,2 – 7,3 ;  $P=4,7 \times 10^{-35}$ ) ainsi que l'analyse combinée (population de découverte et population de réplification,  $OR_{aj}=4,7$  ;  $IC_{95\%}$ , 3,9 – 5,8 ;  $P=1,3 \times 10^{-49}$ ). Pour l'étape de réplification, l'association entre *MUC5B* rs35705950 et la PR-PID était mis en évidence dans chaque population, à l'exception des populations asiatiques au sein desquelles la faible fréquence attendue de l'allèle rare ne permettait pas de détecter le signal d'association (Tableau 5, Figure 8B). Le meilleur modèle génétique concernant l'association détectée était le modèle dominant pour les 3 populations étudiées (population de découverte, population de réplification multi-ethnique et analyse combinée).



**Tableau 5. Résultats des tests d'association génotypique du variant *MUC5B* rs35705950 avec les patients atteints de polyarthrite rhumatoïde (PR), avec ou sans pneumopathie interstitielle diffuse (PID) et chez les témoins sains**

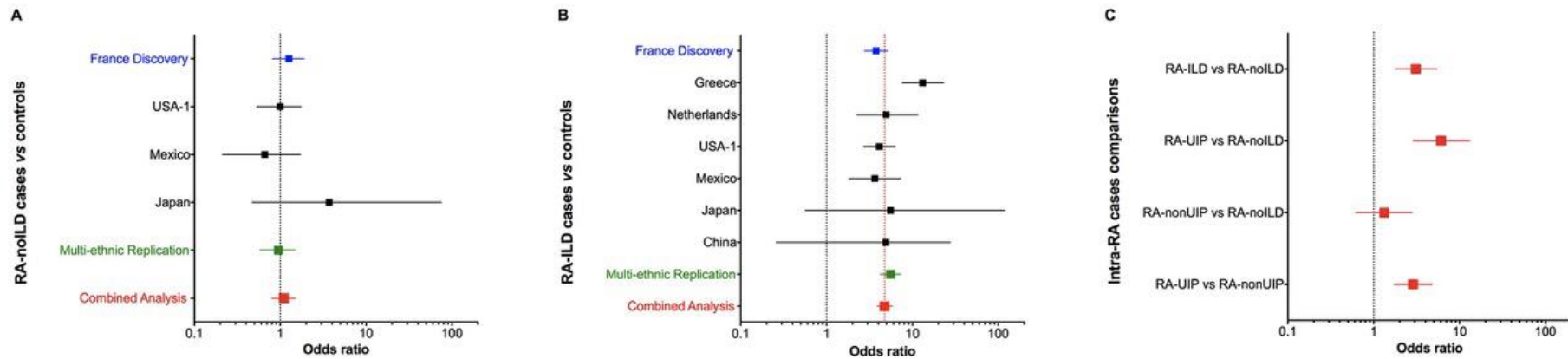
Populations	Témoins N d'individus	PR-non PID	PR-PID	<i>MUC5B</i> rs35705950			Test d'association génotypique PR-non PID vs Témoins				Test d'association génotypique PR-PID vs Témoins				Test d'association génotypique PR-PID vs PR-non PID			
				Fréquence de l'allèle mineur			Brut		Ajusté*		Brut		Ajusté*		Brut		Ajusté**	
				Témoins	PR-non PID	PR-PID	Odds Ratio pour	P	Odds Ratio pour	P	Odds Ratio pour	P	Odds Ratio pour	P	Odds Ratio pour	P	Odds Ratio pour	P
				Pourcentage			PR-non PID (IC <sub>95%</sub> )		PR-non PID (IC <sub>95%</sub> )		PR-PID (IC <sub>95%</sub> )		PR-PID (IC <sub>95%</sub> )		PR-PID (IC <sub>95%</sub> )		PR-PID (IC <sub>95%</sub> )	
France (Découverte)	1229	105	118	10,9	12,9	32,6	1,2 (0,8–1,8)	0,40	1,3 (0,8–1,9)	0,28	3,8 (2,8–5,2)	3,8x10 <sup>-17</sup>	3,8 (2,8–5,2)	9,7x10 <sup>-17</sup>	3,8 (2,2–6,8)	5,9x10 <sup>-6</sup>	3,1 (1,6–6,3)	9,4x10 <sup>-4</sup>
Grèce	1795	-	56	3,8	-	26,8	-	-	-	-	13,2 (7,6–22,9)	2,2x10 <sup>-20</sup>	13,2 (7,6–23,0)	6,2x10 <sup>-20</sup>	-	-	-	-
Pays-Bas	249	-	40	9,0	-	30,0	-	-	-	-	5,6 (2,9–11,2)	5,0x10 <sup>-7</sup>	4,9 (2,2–11,5)	1,2x10 <sup>-4</sup>	-	-	-	-
USA-1	500	68	99	10,7	11,0	28,8	1,0 (0,6–1,8)	0,91	1,0 (0,5–1,7)	0,99	4,1 (2,7–6,3)	5,8x10 <sup>-11</sup>	4,1 (2,7–6,3)	5,6x10 <sup>-11</sup>	5,4 (2,6–11,7)	7,9x10 <sup>-6</sup>	NA	NA
USA-2	-	72	48	-	12,5	13,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,1 (0,5–2,5)	0,80	NA	NA
Mexique	347	69	55	5,3	3,6	16,4	0,7 (0,2–1,6)	0,42	0,7 (0,2–1,7)	0,42	3,4 (1,8–6,2)	1,1x10 <sup>-4</sup>	3,6 (1,8–7,3)	2,2x10 <sup>-4</sup>	5,7 (2,1–18,6)	1,5x10 <sup>-3</sup>	3,8 (1,2–13,3)	0,03
Japon	315	300	182	0,2	0,5	1,1	3,2 (0,4–64,3)	0,32	3,7 (0,5–75,1)	0,26	7,1 (1,0–138,6)	0,08	5,5 (0,6–119,1)	0,16	2,2 (0,5–11,4)	0,30	3,1 (0,3–28,0)	0,30
Chine	1013	-	22	0,8	-	2,3	-	-	-	-	3,0 (0,2–15,6)	0,30	4,9 (0,3–27,5)	0,14	-	-	-	-
Réplication Multi-Ethnique	4219	509	502	-	-	-	1,0 (0,6–1,5)	0,90	1,0 (0,6–1,5)	0,83	5,5 (4,2–7,2)	3,9x10 <sup>-35</sup>	5,5 (4,2–7,3)	4,7x10 <sup>-35</sup>	3,1 (2,0–5,0)	5,3x10 <sup>-7</sup>	2,9 (1,1–8,4)	0,04
Analyse Combinée	5448	614	620	-	-	-	1,1 (0,8–1,5)	0,60	1,1 (0,8–1,5)	0,54	4,7 (3,8–5,8)	1,3x10 <sup>-49</sup>	4,7 (3,9–5,8)	1,3x10 <sup>-49</sup>	3,4 (2,4–4,8)	1,6x10 <sup>-11</sup>	3,1 (1,8–5,4)	7,4x10 <sup>-5</sup>

PR : polyarthrite rhumatoïde, PID : pneumopathie interstitielle diffuse

\* P ajustés pour le sexe et la population d'origine

\*\* P ajusté pour le sexe, l'âge à l'inclusion, le statut tabagique et la population d'origine

NB : l'ensemble des covariables n'étaient pas disponibles pour l'ajustement



**Figure 8. Association entre le variant du promoteur de *MUC5B* rs35705950 et la pneumopathie interstitielle diffuse (PID) associée à la polyarthrite rhumatoïde (PR)**

Forest plots représentant les OR et les Intervalles de confiance à 95% (IC<sub>95%</sub>). Le carré représente l'OR, la ligne horizontale indique l'IC<sub>95%</sub> pour le meilleur modèle génétique de chaque test d'association. La ligne pointillée noire représente un OR égal à 1. Les carrés et lignes rouges l'OR et l'IC<sub>95%</sub> de l'analyse combinée (population de découverte + population de répliation multi-ethnique). Pour la comparaison des patients PR avec les témoins, les associations ont été ajustées pour la population d'origine, le sexe, l'âge à inclusion et le statut tabagique.

**A.** Absence d'association du variant du promoteur de *MUC5B* rs35705950 avec la PR sans PID (PR-non PID).

**B.** Association génotypique additive entre le variant du promoteur de *MUC5B* rs35705950 et la PR-PID. La ligne pointillée rouge représente la valeur de l'OR de l'analyse combinée.

**C.** Association génotypique dominante entre le variant du promoteur de *MUC5B* rs35705950 et la survenue d'une PID chez les patients PR et la survenue d'une pneumopathie interstitielle commune (PIC) certaine ou possible.

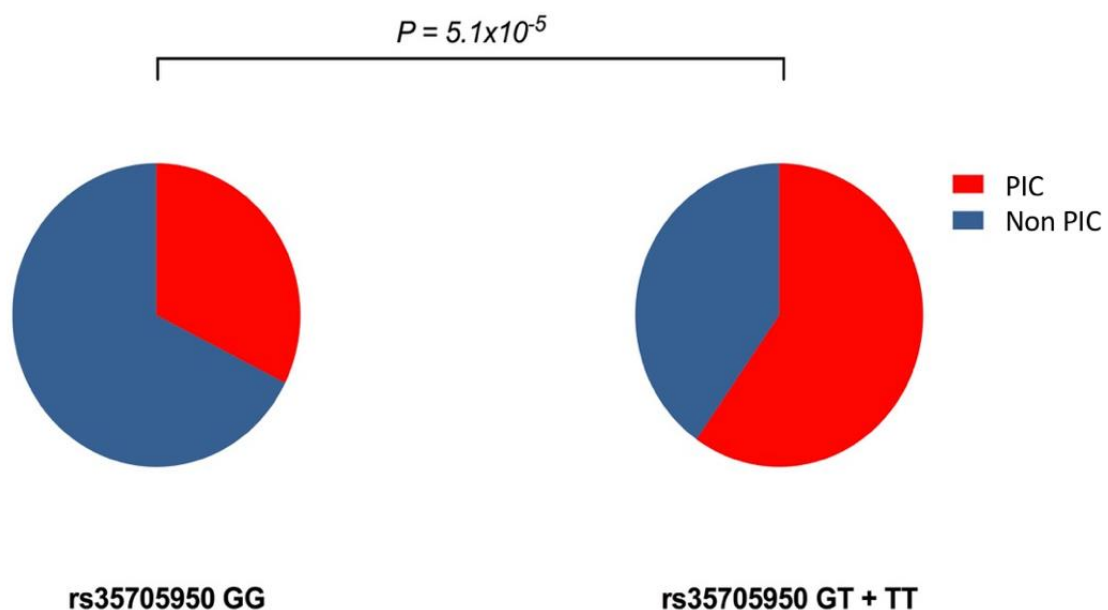
### 3.4 *MUC5B* rs35705950 ET RISQUE DE PID AU COURS DE LA PR

Afin d'explorer la contribution du variant du promoteur de *MUC5B* rs35705950 au risque de développer une PID parmi les patients atteints de PR, nous avons comparé les patients PR-PID aux patients PR-non PID. Le variant *MUC5B* rs35705950 était associé à la PR-PID dans la population de découverte ( $OR_{aj}=3,1$  ;  $IC_{95\%}$ , 1,6 – 6,3 ;  $P=9,4 \times 10^{-4}$ ), la population de réplification multi-ethnique ( $OR_{aj}=2,9$  ;  $IC_{95\%}$ , 1,1 – 8,4 ;  $P=0,04$ ) et lors de l'analyse combinée ( $OR_{aj}$ , 3,1 ;  $IC_{95\%}$ , 1,8 – 5,4 ;  $P=7,4 \times 10^{-5}$ ) (Tableau 5, Figure 8C). Concernant la comparaison des patients PR-PID avec les patients PR-non PID, le meilleur modèle génétique était dominant pour les 3 populations étudiées (population de découverte, population de réplification multi-ethnique et analyse combinée). Après ajustement, aucune association n'était observée entre le tabagisme et le risque de développer une PID chez les patients PR. De plus, aucune interaction n'était mise en évidence entre le tabagisme et le variant du promoteur de *MUC5B* ( $OR_{aj}=0,7$  ;  $IC_{95\%}$ , 0,3 – 1,9 ;  $P=0,51$ ).

### 3.5 *MUC5B* rs35705950 ET RISQUE DE PIC AU COURS DE LA PR

En limitant l'analyse aux patients PR-PID présentant un aspect de PIC certaine ou possible sur le scanner thoracique, on trouvait une association entre *MUC5B* rs35705950 et la PIC associée à la PR au sein de la population de découverte ( $OR_{aj}=5,0$  ;  $IC_{95\%}$ , 2,1 – 12,3 ;  $P=3,0 \times 10^{-4}$ ) (Tableau 6, Figure 8C). Cette association était répliquée au sein de la population multi-ethnique ( $OR_{aj}=9,2$  ;  $IC_{95\%}$ , 2,3 – 38,7 ;  $P=1,8 \times 10^{-3}$ ) et lors de l'analyse combinée ( $OR_{aj}=6,1$  ;  $IC_{95\%}$ , 2,9 – 13,1 ;  $P=2,5 \times 10^{-6}$ ) (Tableau 6, Figure 8C). Pour l'analyse combinée, la comparaison de l'OR « PR-PIC vs PR-non PID » ( $OR_{aj}=6,1$  ;  $IC_{95\%}$ , 2,9 – 13,1 ;  $P=2,5 \times 10^{-6}$ ) à l'OR « PR-PID non PIC vs PR-non PID » ( $OR_{aj}=1,3$  ;  $IC_{95\%}$ , 0,6 – 2,8 ;  $P=0,46$ ) était statistiquement

significative ( $P=0,02$ ). Ce résultat suggère que la contribution du variant *MUC5B* rs35705950 au risque de PID au cours de la PR serait restreinte au sous-phénotype de PIC (Tableau 6 et 7, Figure 8C). Enfin, le meilleur modèle génétique était dominant pour les 3 populations étudiées. Le risque de développer une PIC certaine ou possible chez les patient PR-PID portant au moins un allèle T du variant du promoteur de *MUC5B* rs35705950 était 2,9 fois plus élevé que chez ceux portant le génotype GG ( $OR_{aj}=2,9$  ;  $IC_{95\%}$ , 1,7 – 4,8 ;  $P=5,1 \times 10^{-5}$ ) (Tableau 8, Figures 8C et 9). Après ajustement avec les covariables, le tabagisme ne contribuait pas au risque de développer un aspect scannographique particulier de PID. Aucune interaction entre le tabagisme et le promoteur de *MUC5B* n'était observée pour les différents aspects scannographiques de PID.



**Figure 9. Distribution des phénotypes scannographiques de pneumopathie interstitielle commune (PIC) certaine ou possible des aspects incompatible avec le diagnostic de PIC en fonction du génotype de *MUC5B* rs35705950. rs35705950 T est l'allèle à risque.**

PIC : pneumopathie interstitielle commune

**Tableau 6. Résultats des tests d'association génotypique du variant *MUC5B* rs35705950 avec les patients atteints de polyarthrite rhumatoïde (PR) avec une pneumopathie interstitielle diffuse (PID) présentant une pneumopathie interstitielle commune (PIC) certaine ou possible (PR-PIC) et les patients atteints de PR sans PID (PR-non PID)**

Populations	Patients PR		<i>MUC5B</i> rs35705950 Fréquence de l'allèle mineur		P	Test d'association génotypique		
	PR-PIC <i>N d'individus</i>	PR-non PID	PR-PIC <i>pourcentage</i>	PR-non PID		Brut Odds Ratio pour PR-PIC (95%CI)	P	Ajusté* Odds Ratio pour PR-PIC (95%CI)
France (Découverte)	50	105	34,0	11,9	$4,6 \times 10^{-7}$	6,8 (3,3–14,7)	$3,0 \times 10^{-4}$	5,0 (2,1–12,3)
USA-1	34	68	33,8	8,8	$2,7 \times 10^{-6}$	9,8 (3,9–26,3)	NA	NA
Mexique	19	69	28,9	3,6	$1,3 \times 10^{-5}$	17,6 (5,1–69,6)	$1,3 \times 10^{-3}$	10,4 (2,6–46,9)
Japon	60	300	1,7	0,5	0,18	3,4 (0,4–21,0)	0,99	NA <sup>†</sup>
Réplication Multi-Ethnique	113	437	-	-	$8,5 \times 10^{-11}$	10,0 (5,1–20,5)	$1,8 \times 10^{-3}$	9,2 (2,3–38,7)
Analyse combinée	163	542	-	-	$2,5 \times 10^{-16}$	8,4 (5,1–14,1)	$2,5 \times 10^{-6}$	6,1 (2,9–13,1)

La population PR-PIC a inclus les patients présentant un aspect de PIC certaine ou possible sur le scanner thoracique

\* P ajustés pour le sexe, l'âge à l'inclusion, le tabagisme et la population d'origine

NB : l'ensemble des covariables n'étaient pas disponibles pour l'ajustement

NA<sup>†</sup> : les OR et les IC<sub>95%</sub> ne sont pas rapportés à cause de la faible proportion de porteurs du génotype à risque.

**Tableau 7. Résultats des tests d'association génotypique du variant *MUC5B* rs35705950 avec les patients atteints de polyarthrite rhumatoïde (PR) avec une pneumopathie interstitielle diffuse (PID) présentant un aspect incompatible avec une pneumopathie interstitielle commune (PR-non PIC) et les patients atteints de PR sans PID (PR-non PID)**

Populations	Patients PR		<i>MUC5B</i> rs35705950 Fréquence de l'allèle mineure		P	Test d'association génotypique		
	PR-non PIC <i>N d'individus</i>	PR-non PID	PR-non PIC <i>pourcentage</i>	PR-non PID		Bruts Odds Ratio pour PR-non PIC (IC <sub>95%</sub> )	P	Ajustés* Odds Ratio pour PR-non PIC (IC <sub>95%</sub> )
France (Découverte)	31	105	12,9	11,9	0,82	1,1 (0,4–2,7)	0,95	1,0 (0,3–2,7)
USA-1	42	68	23,8	8,8	1,1x10 <sup>-3</sup>	4,2 (1,8–10,4)	NA	NA
Mexique	36	69	8,3	3,6	0,15	2,6 (0,7–9,5)	0,38	1,9 (0,4–8,4)
Japon	122	300	0,8	0,5	0,59	1,7 (0,2–10,1)	0,17	4,2 (0,5–34,0)
Réplication Multi-Ethnique	200	437	-	-	4,7x10 <sup>-4</sup>	3,3 (1,7–6,4)	0,22	2,1 (0,6–6,6)
Analyse Combinée	231	542	-	-	2,5x10 <sup>-3</sup>	2,2 (1,3–3,8)	0,46	1,3 (0,6–2,8)

PR : polyarthrite rhumatoïde, PIC : pneumopathie interstitielle commune, PID : pneumopathie interstitielle diffuse

La population PR-non PIC a inclus les patients présentant un aspect incompatible avec une PIC : pneumopathie interstitielle non spécifique, pneumopathie organisée ou inclassable.

\* P ajustés pour le sexe, l'âge à l'inclusion, le tabagisme et la population d'origine

NB : l'ensemble des covariables n'étaient pas disponibles pour l'ajustement

**Tableau 8. Résultats des tests d'association génotypique du variant *MUC5B* rs35705950 avec les patients atteints de polyarthrite rhumatoïde avec pneumopathie interstitielle diffuse (PR-PID) présentant un aspect de pneumopathie interstitielle commune (PIC) certaine ou possible et les patients atteints de PR-PID présentant un aspect incompatible avec une PIC (non PIC)**

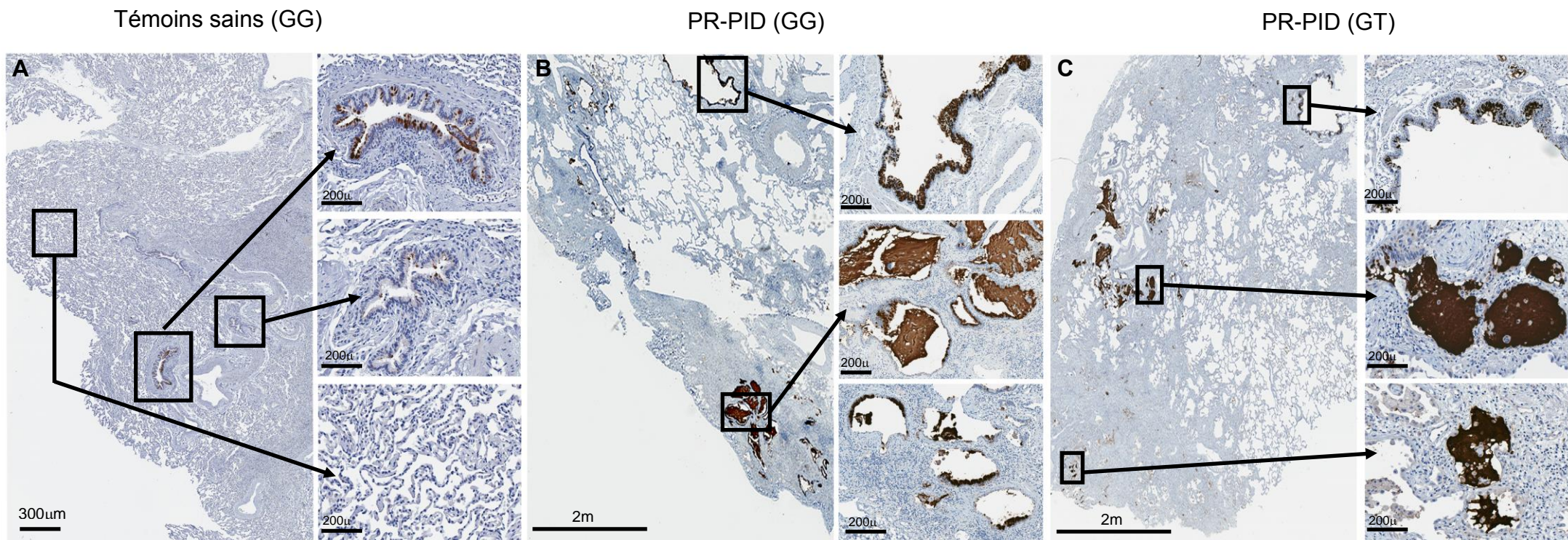
Population	Patients PR-PID		<i>MUC5B</i> rs35705950 Fréquence de l'allèle mineur		P	Test d'association génotypique			
	PR-PIC	PR-non PIC	PR-PIC	PR-non PIC		Brut Odds Ratio	P	Ajusté*	
	<i>N d'individus</i>		<i>pourcentage</i>			pour PR-PIC (IC <sub>95%</sub> )		Odds Ratio pour PR-PIC (IC <sub>95%</sub> )	
France (Découverte)	50	31	34,0	12,9	3,9x10 <sup>-4</sup>	6,1 (2,3–17,5)	2,7x10 <sup>-3</sup>	4,9 (1,8–14,6)	
Grèce	18	38	36,1	21,1	0,04	3,6 (1,1–13,1)	0,12	2,9 (0,8–12,1)	
Pays-Bas	18	22	33,3	25,0	0,29	2,0 (0,6–7,6)	0,51	1,6 (0,4–6,7)	
USA-1	34	42	33,8	23,8	0,08	2,3 (0,9–6,0)	0,18	2,1 (0,7–6,3)	
Mexique	19	36	28,9	8,3	2,8x10 <sup>-3</sup>	6,9 (2,0–26,0)	0,07	3,8 (0,9–16,8)	
Japon	60	122	1,7	0,8	0,47	2,1 (0,2–17,6)	0,99	NA <sup>†</sup>	
Chine	8	7	0	7,1	1,0	NA <sup>†</sup>	1,0	NA <sup>†</sup>	
Réplication Multi-Ethnique	157	267	-	-	1,5x10 <sup>-4</sup>	2,9 (1,7–5,0)	6,3x10 <sup>-3</sup>	2,3 (1,3–4,1)	
Analyse Combinée	207	298	-	-	3,6x10 <sup>-7</sup>	3,5 (2,2–5,6)	5,1x10 <sup>-5</sup>	2,9 (1,7–4,8)	

PR : polyarthrite rhumatoïde, PIC : pneumopathie interstitielle commune, PID : pneumopathie interstitielle diffuse  
La population PR-PIC a inclus les patients présentant un aspect de PIC certaine ou possible sur le scanner thoracique

### 3.6 LOCALISATION DE L'EXPRESSION DE MUC5B CHEZ LES PATIENTS PR-PID

Un marquage de MUC5B par immunofixation a été effectué sur des coupes issues d'explants pulmonaires provenant de 9 patients PR-PID (5 patients GG et 4 patients GT) et de 6 témoins sains (3 individus GG et 3 individus GT). De façon similaire à ce qui a été rapporté dans la FPI, un marquage au sein du cytoplasme des cellules de l'épithélium bronchique et du rayon de miel microscopique, au niveau de l'épithélium métaplasique bordant les kystes et au niveau du mucus à l'intérieur des kystes, était observé sur les coupes provenant des patients PR-PID (Figure 10). L'expression de MUC5B était limitée au mucus et à l'épithélium bronchique chez les individus sains et chez 2 patients présentant une pneumopathie interstitielle desquamative (Figures 10 et 11). Aucun rayon de miel microscopique n'était observé sur les biopsies de ces populations témoins. Avec ce nombre limité d'échantillons, aucune différence dans l'expression de MUC5B n'était observée en fonction du génotype.



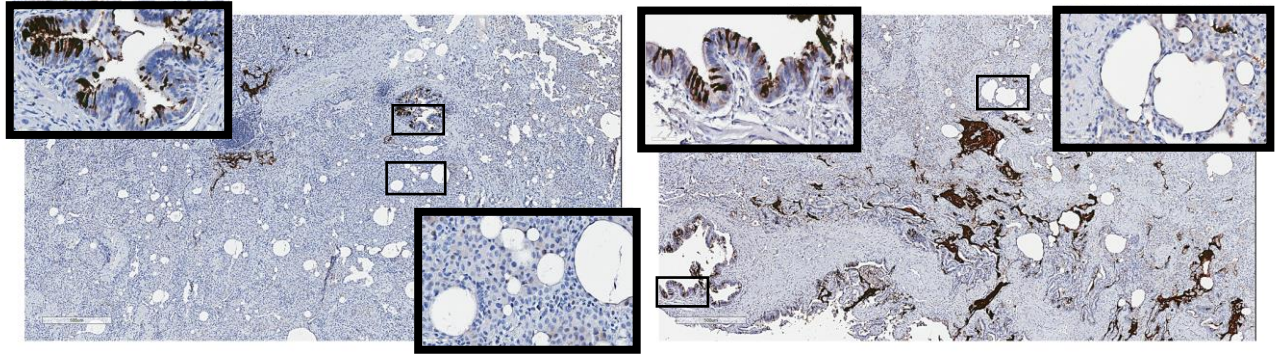


**Figure 10. Expression de MUC5B sur des coupes issues de témoins sains et de patients atteints d'une pneumopathie interstitielle diffuse (PID) associée à une polyarthrite rhumatoïde (PR)**

Images représentatives de tissu pulmonaire provenant d'un témoin sain (génotype GG, Image A) et de deux patients atteints de PR-PID (génotype GG, Image B et génotype GT, Image C).

**Image A** – image à faible grossissement d'un poumon d'architecture normale et images à fort grossissement de l'épithélium alvéolaire et de bronchioles montrant un marquage physiologique pour MUC5B au niveau des bronchioles.

**Image B et C** – images à faible grossissement d'un aspect de pneumopathie interstitielle commune issues de patients atteints de PR-PID et images à fort grossissement de bronchioles et du rayon de miel microscopique où l'on observe également un marquage pour MUC5B au niveau de l'épithélium métaplasique bordant les kystes de rayon de miel et du mucus à l'intérieur des kyste (cadre moyen et inf).



**Figure 11. Marquage immuno-histochimique pour MUC5B sur des coupes issues d'explants de poumons provenant de patients atteints d'une pneumopathie interstitielle desquamative.**

Images (4X) issues de tissus pulmonaire provenant de 2 patients atteints d'une pneumopathie interstitielle desquamative marquées avec un anticorps ciblant MUC5B. Les cadres montrent des images au fort grossissement (40X) du parenchyme alvéolaire et des voies aériennes. Un marquage pour MUC5B est détecté au niveau de l'épithélium bronchique. On n'observe ni épithélium métaplasique ni expression de MUC5B au sein des kystes sur ces coupes.

### 3.7 PHASE EXPLORATOIRE D'UNE ETUDE D'ASSOCIATION DE 12 AUTRES VARIANTS

#### GENETIQUES A RISQUE DE FPI DANS LA PR-PID

Ayant démontré la contribution du principal facteur de risque génétique associé à la FPI (le variant du promoteur de *MUC5B*), au risque de PID au cours de la PR nous avons testé 12 autres variants communs ayant été précédemment associés à la FPI (Tableau 9)<sup>46,53,54</sup>. Cette étude préliminaire a inclus 272 patients PR-PID et 242 patients PR-non PID provenant des population française, mexicaine et USA-1. Du fait de la petite taille de cet échantillon et de la faible puissance de détection, les OR, IC<sub>95%</sub> et les valeurs *P* pour chacun des tests des 12 variants candidats ont été considérés comme descriptifs et aucune correction de Bonferoni n'a été réalisée (Tableau 9). En comparant les patients PR-PID et PR-non PID, une association statistiquement significative était observée pour 2 variants communs associés à la FPI, *TOLLIP* rs5743890 et *IVD* rs2034650. L'allèle mineur de *TOLLIP* rs5743890 était associé à un risque augmenté de développer une PR-PID et l'allèle mineur de *IVD* rs2034650 était associé

à un risque diminué de développer une PR-PID (respectivement  $OR_{aj}=2,13$  ;  $IC_{95\%}$ , 1,13 – 4,10 ;  $P=0,02$  et  $OR_{aj}=0,59$  ;  $IC_{95\%}$ , 0,38 – 0,89 ;  $P=0,01$ ). Le sens de ces deux associations était similaire à celui rapporté dans la FPI <sup>44</sup>. Aucune association n'était détectée entre la PR-PID et les 10 autres variants étudiés. (Tableau 9).



**Tableau 9. Résultats de l'étude préliminaire d'association génotypique de 13 variants de susceptibilité à la fibrose pulmonaire idiopathique avec la PR-PID**

SNP	Position*	Allèle Mineur	Locus	Gène le plus proche	Fréquence de l'allèle mineur (%)						Test d'association génotypique			
					France		USA		Mexique		Brut		Ajusté**	
					PR-PID n=118	PR-non PID n=105	PR-PID n=99	PR-non PID n=68	PR-PID n=55	PR-non PID n=69	Odds Ratio (IC <sub>95%</sub> )	P	Odds Ratio (IC <sub>95%</sub> )	P
rs6793295	169518455	C	3q26	<i>LRRC34</i>	21,9	21,2	29,7	32,1	60,8	60,9	0,89 (0,68-1,15)	0,36	0,84 (0,56-1,25)	0,39
rs2609255	89811195	G	4q22	<i>FAM13A</i>	28,6	28,7	25,3	25,4	29,4	37,5	0,89 (0,67-1,16)	0,38	0,89 (0,62-1,29)	0,54
rs2736100	1286516	A	5p15	<i>TERT</i>	46,5	42,2	48,1	47,8	71,6	71,7	1,00 (0,79-1,27)	0,99	1,18 (0,84-1,67)	0,35
rs7887	31864547	T	6p21.3	<i>EHMT2</i>	42,3	38,6	36,7	42,5	58,8	72,5	0,82 (0,64-1,04)	0,10	0,91(0,64-1,29)	0,59
rs2076295	7563232	G	6p24	<i>DSP</i>	50,0	50,0	44,3	46,3	31,0	34,0	1,01 (0,80-1,28)	0,94	1,03 (0,73-1,46)	0,85
rs4727443	99593346	A	7q22	<i>Intergenic</i>	35,2	46,0	41,8	35,8	50,0	53,7	0,83 (0,65-1,07)	0,15	0,76 (0,53-1,07)	0,11
rs11191865	105672842	G	10q24	<i>OBFC1</i>	49,5	46,8	38,0	55,4	37,3	43,4	0,81 (0,62-1,05)	0,11	1,13 (0,78-1,65)	0,52
<b>rs35705950</b>	<b>1241221</b>	<b>T</b>	<b>11p15.5</b>	<b><i>MUC5B</i></b>	<b>32,6</b>	<b>12,9</b>	<b>28,8</b>	<b>11,0</b>	<b>16,4</b>	<b>3,6</b>	<b>3,63 (2,54-5,31)</b>	<b>7,31x10<sup>-12</sup></b>	<b>3,00 (1,86-4,99)</b>	<b>1,15Ex10<sup>-05</sup></b>
rs5743890	1325829	C	11p15.5	<i>TOLLIP</i>	21,5	14,2	16,7	15,1	10,0	4,5	1,61 (1,06-2,48)	0,03	2,13 (1,13-4,10)	0,02
rs111521887	1312706	G	11p15.5	<i>TOLLIP</i>	16,7	18,0	19,2	12,3	6,9	4,4	1,33 (0,89-1,98)	0,16	0,96 (0,55-1,69)	0,89
rs1278769	113536627	A	13q34	<i>ATP11A</i>	19,6	26,1	23,4	23,8	12,7	18,1	0,83 (0,61-1,12)	0,22	0,64 (0,41-0,99)	0,05
rs2034650	40717302	G	15q14-15	<i>IVD</i>	43,3	53,7	41,0	48,4	27,5	38,1	0,71 (0,54-0,95)	0,02	0,59 (0,38-0,89)	0,01
rs12610495	4717672	G	19p13	<i>DPP9</i>	31,4	33,0	32,9	31,1	19,6	12,5	1,14 (0,87-1,50)	0,33	1,19 (0,82-1,75)	0,37

\* Basé sur la base de données GRCh 37/hg19

\*\* Les valeurs de P et les OR ont été ajustés pour le sexe, l'âge à inclusion, le statut tabagique et la population d'origine f

## 4 DISCUSSION

Nos résultats démontrent que le variant *MUC5B* rs35705950, facteur de risque génétique le plus fortement associé à la FPI, est également un facteur de risque génétique important de la PR-PID, et plus spécifiquement du sous-phénotype PR-PIC. L'association observée entre le variant *MUC5B* rs35705950 et la PR-PID était semblable en termes de magnitude et de direction de signal à celle observée pour la FPI<sup>44,56</sup>. Cependant, en accord avec les précédentes études d'association pangénomiques réalisées dans la PR<sup>57</sup>, nous n'avons détecté aucune association entre *MUC5B* rs35705950 et la PR sans PID. Ceci confirme l'absence de contribution du variant rs35705950 au phénotype PR dans sa globalité. De ce fait, nos résultats montrent que *MUC5B* rs35705950 n'est pas un facteur de susceptibilité de la PR mais influence son phénotype en tant que facteur de risque de PIC.

L'association avec *MUC5B* rs35705950 semble spécifique à la PR-PID. En effet, à ce jour, aucune association n'a été observée entre *MUC5B* rs35705950 et l'atteinte pulmonaire interstitielle d'autres connectivites telles que la sclérodermie systémique ou les myosites auto-immunes<sup>58-60</sup>. L'association détectée dans notre étude pourrait être expliquée par la forte prévalence de la PIC au cours de la PR. Ainsi, deux études ont récemment identifié *MUC5B* rs35705950 comme facteur de risque génétique pour la pneumopathie d'hypersensibilité chronique et pour l'atteinte pulmonaire interstitielle associée aux vascularites à ANCA de type anti-MPO, deux autres pathologies au cours desquelles la prévalence du sous-phénotype PIC est élevée<sup>61,62</sup>. L'ensemble de ces résultats font émettre l'hypothèse de l'existence d'un endotype *MUC5B* rs35705950 conduisant à un phénotype PIC indépendamment de la pathologie sous-jacente.

Dans cette étude, nous montrons que *MUC5B* rs35705950, précédemment associé à la FPI, est également associé à la PR-PID. Notre étude exploratoire observait de plus une association entre la PR-PID et 2 autres variants communs précédemment associés à la FPI (*TOLLIP* rs5743890 et *IVD* rs2034650). Dans une précédente publication, nous avons rapporté un excès de mutations au sein de gènes liés aux formes familiales de fibrose pulmonaire chez des patients PR-PID<sup>8</sup>. L'ensemble de ces données conforte l'hypothèse d'une architecture génétique partagée entre PR-PID et FPI. Ces résultats, ainsi que ceux d'une récente publication mettant en évidence une auto-immunité spécifique de la PR (positivité pour les ACPA) chez des individus asymptomatiques présentant des signes scannographiques de PID<sup>63</sup>, viennent conforter l'hypothèse de voies physiopathogéniques communes entre PR-PID et FPI.

La forte association observée entre *MUC5B* rs35705950 et la PR-PID soulève la question du génotypage de *MUC5B* rs35705950 chez les patients présentant une PR comme test dépistage d'une PID préclinique<sup>64</sup>. Son utilité pour un diagnostic précoce de la PID chez les patients PR devra être évaluée. Toutefois, un tel test ne sera pertinent que lorsque des traitements spécifiques de la PR-PID seront disponibles.

L'utilisation des études pangénomiques a permis l'identification de nombreux variants communs associés aux maladies auto-immunes. Cependant la plupart de ces variants confèrent un risque faible de développer la maladie et les implications dans la compréhension, le diagnostic ou le traitement sont limitées<sup>64</sup>. L'association observée ici entre *MUC5B* rs35705950 et la PR-PID est donc une exception. En effet, la magnitude du signal d'association détectée est comparable à celle du signal HLA observée dans la PR<sup>57,65</sup>. Il s'agit d'un variant fréquent à effet fort<sup>66</sup>.

Les résultats de notre étude exploratoire concernant les 12 autres variants communs associés à la FPI suggèrent une possible contribution de *TOLLIP* rs5743890 et *IVD* rs2034650 à la PR-PID. Cependant, du fait d'une faible puissance de détection liée au nombre limité de patients inclus, une étape de réplication est nécessaire afin de conclure sur l'association de ces deux autres variants avec la PR-PID. En effet, le nombre nécessaire de patients à inclure dans l'étape de découverte pour obtenir une puissance de détection d'au moins 80% serait de 1560 patients PR-PID et de 1560 patients PR-non PID (Tableau 10).

**Tableau 10. Puissances de détection d'une population de découverte incluant 272 PR-PID et 242 PR-non PID pour les 12 variants associés à la FPI supplémentaires calculées à partir des données publiées dans les études d'associations génétiques**

Position	SNP	Allèle mineur	Gène le plus proche	Fréquence de l'allèle mineur publiées		Données des tests d'association génétiques publiés		Références	Puissance de détection de la population de découverte	Taille de l'échantillon nécessaire pour une puissance > 80%	
				Témoins	Cas	Odds Ratio (IC <sub>95%</sub> )	P			P (%)	PR-PID
3q26	rs6793295	C	<i>LRRC34</i>	0.32	0.26	1.30 (1.19-1.42)	3.20x10 <sup>-7</sup>	46	15	1087	1087
4q22	rs2609255	G	<i>FAM13A</i>	0.21	0.26	1.29 (1.18-1.42)	5.27x10 <sup>-6</sup>	46	11	1325	1325
5p15	rs2736100	A	<i>TERT</i>	0.51	0.43	0.73 (0.67-0.79)	7.60x10 <sup>-14</sup>	46	34	611	611
6p21.3	rs7887	T	<i>EHMT2</i>	0.38	0.32	0.80 (0.73-0.87)	5.87x10 <sup>-5</sup>	54	11	1312	1312
6p24	rs2076295	G	<i>DSP</i>	0.44	0.54	1.43 (1.32-1.55)	1.14x10 <sup>-16</sup>	46	47	475	475
7q22	rs4727443	A	<i>Intergénique</i>	0.39	0.46	1.30 (1.20-1.41)	6.72x10 <sup>-9</sup>	46	20	903	903
10q24	rs11191865	G	<i>OBFC1</i>	0.51	0.45	0.80 (0.74-0.87)	2.82x10 <sup>-7</sup>	46	13	1209	1209
11p15.5	rs5743890	C	<i>TOLLIP</i>	0.21	0.29	1.58 (1.30-1.93)	1.26x10 <sup>-7</sup>	53	57	400	400
11p15.5	rs111521887	G	<i>TOLLIP</i>	0.21	0.29	1.54 (1.26-1.87)	5.01x10 <sup>-7</sup>	53	50	450	450
13q34	rs1278769	A	<i>ATP11A</i>	0.24	0.20	0.79 (0.72-0.88)	9.11x10 <sup>-7</sup>	46	9	1560	1560
15q14-15	rs2034650	G	<i>IVD</i>	0.49	0.42	0.77 (0.71-0.84)	1.86x10 <sup>-9</sup>	46	20	1467	1467
19p13	rs12610495	G	<i>DPP9</i>	0.29	0.34	1.29 (1.18-1.41)	9.57x10 <sup>-9</sup>	46	15	1086	1086

PR : polyarthrite rhumatoïde, PID : pneumopathie interstitielle diffuse, SNP : single nucleotid polymorphism



Notre travail concernant la compréhension de l'architecture génétique de la PR-PID a abouti à plusieurs résultats importants. La PR-PID est une maladie génétique complexe, l'allèle mineur de *MUC5B* rs35705950 ayant été identifié comme facteur de risque de développer une PID au cours de la PR et plus spécifiquement une PIC. De plus, la force de l'association de *MUC5B* rs35705950 avec la PR-PID est équivalente à celle observée dans la FPI. Nos résultats suggèrent également que *MUC5B* rs35705950 pourrait être évalué comme outil de détection d'une PID préclinique chez les patients PR. Enfin, d'autres variants communs associés à la FPI pourraient également contribuer au terrain génétique de la PR-PID, sous réserve d'une validation.

Au total, nos résultats sont les premiers à apporter des arguments solides en faveur de mécanismes physiopathogéniques communs, partagés entre FPI et PR-PID. Nos résultats encouragent ainsi l'évaluation de thérapies spécifiques à la FPI, comme le nintedanib et la pirfenidone, chez les patients PR-PID, et plus particulièrement chez ceux présentant un phénotype de PIC<sup>67,68</sup>.

## 5 REFERENCES

1. Habib HM, Eisa AA, Arafat WR, Marie MA. Pulmonary involvement in early rheumatoid arthritis patients. *Clin Rheumatol* 2011;30:217-21.
2. Chen J, Shi Y, Wang X, Huang H, Ascherman D. Asymptomatic preclinical rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease. *Clin Dev Immunol* 2013;2013:406927.
3. Olson AL, Swigris JJ, Sprunger DB, et al. Rheumatoid arthritis-interstitial lung disease-associated mortality. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;183:372-8.
4. Cavagna L, Monti S, Grosso V, et al. The multifaceted aspects of interstitial lung disease in rheumatoid arthritis. *Biomed Res Int* 2013;2013:759760.
5. Myasoedova E, Crowson CS, Turesson C, Gabriel SE, Matteson EL. Incidence of extraarticular rheumatoid arthritis in Olmsted County, Minnesota, in 1995-2007 versus 1985-1994: a population-based study. *J Rheumatol* 2011;38:983-9.
6. Bartels CM, Bell CL, Shinki K, Rosenthal A, Bridges AJ. Changing trends in serious extra-articular manifestations of rheumatoid arthritis among United State veterans over 20 years. *Rheumatology (Oxford)* 2010;49:1670-5.
7. Bongartz T, Nannini C, Medina-Velasquez YF, et al. Incidence and mortality of interstitial lung disease in rheumatoid arthritis: a population-based study. *Arthritis Rheum* 2010;62:1583-91.
8. Juge PA, Borie R, Kannengiesser C, et al. Shared genetic predisposition in rheumatoid arthritis-interstitial lung disease and familial pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 2017;49.
9. Aubart F, Crestani B, Nicaise-Roland P, et al. High levels of anti-cyclic citrullinated peptide autoantibodies are associated with co-occurrence of pulmonary diseases with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2011;38:979-82.
10. Koduri G, Norton S, Young A, et al. Interstitial lung disease has a poor prognosis in rheumatoid arthritis: results from an inception cohort. *Rheumatology (Oxford)* 2010;49:1483-9.
11. Mori S, Koga Y, Sugimoto M. Different risk factors between interstitial lung disease and airway disease in rheumatoid arthritis. *Respir Med* 2012;106:1591-9.
12. Saag KG, Kolluri S, Koehnke RK, et al. Rheumatoid arthritis lung disease. Determinants of radiographic and physiologic abnormalities. *Arthritis Rheum* 1996;39:1711-9.
13. Gabbay E, Tarala R, Will R, et al. Interstitial lung disease in recent onset rheumatoid arthritis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:528-35.
14. Kelly CA, Saravanan V, Nisar M, et al. Rheumatoid arthritis-related interstitial lung disease: associations, prognostic factors and physiological and radiological characteristics--a large multicentre UK study. *Rheumatology (Oxford)* 2014;53:1676-82.
15. Giles JT, Danoff SK, Sokolove J, et al. Association of fine specificity and repertoire expansion of anticitrullinated peptide antibodies with rheumatoid arthritis associated interstitial lung disease. *Ann Rheum Dis* 2014;73:1487-94.
16. Joshua V, Chatzidionysiou K, Reynisdottir G, et al. Association Between ACPA Fine Specificity and High Resolution Computed Tomography Lung Changes in Patients with Early Rheumatoid Arthritis. *ARTHRITIS & RHEUMATOLOGY*; 2016: WILEY 111 RIVER ST, HOBOKEN 07030-5774, NJ USA.
17. Assayag D, Lubin M, Lee JS, King TE, Collard HR, Ryerson CJ. Predictors of mortality in rheumatoid arthritis-related interstitial lung disease. *Respirology* 2014;19:493-500.
18. Johnson C, Giles JT, Bathon J, et al. Smoking and Subclinical ILD in RA versus the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *PLoS One* 2016;11:e0153024.

19. Furukawa H, Oka S, Shimada K, et al. Association of human leukocyte antigen with interstitial lung disease in rheumatoid arthritis: a protective role for shared epitope. *PLoS One* 2012;7:e33133.
20. Oka S, Furukawa H, Shimada K, et al. Association of human leukocyte antigen alleles with chronic lung diseases in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2016;55:1301-7.
21. Song ST, Kim SS, Kim JY, et al. Association of Single Nucleotide Polymorphisms of PADI4 and HLA-DRB1 Alleles with Susceptibility to Rheumatoid Arthritis-Related Lung Diseases. *Lung* 2016;194:745-53.
22. Kim EJ, Elicker BM, Maldonado F, et al. Usual interstitial pneumonia in rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease. *Eur Respir J* 2010;35:1322-8.
23. Kim DS. Interstitial lung disease in rheumatoid arthritis: recent advances. *Curr Opin Pulm Med* 2006;12:346-53.
24. de Lauretis A, Veeraghavan S, Renzoni E. Review series: Aspects of interstitial lung disease: connective tissue disease-associated interstitial lung disease: how does it differ from IPF? How should the clinical approach differ? *Chron Respir Dis* 2011;8:53-82.
25. Hallowell RW, Danoff SK. Interstitial lung disease associated with the idiopathic inflammatory myopathies and the antisynthetase syndrome: recent advances. *Curr Opin Rheumatol* 2014;26:684-9.
26. Hallowell RW, Horton MR. Interstitial lung disease in patients with rheumatoid arthritis: spontaneous and drug induced. *Drugs* 2014;74:443-50.
27. Spagnolo P, Lee JS, Sverzellati N, Rossi G, Cottin V. The Lung in Rheumatoid Arthritis: Focus on Interstitial Lung Disease. *Arthritis Rheumatol* 2018.
28. Zamora-Legoff JA, Krause ML, Crowson CS, Ryu JH, Matteson EL. Patterns of interstitial lung disease and mortality in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2017;56:344-50.
29. Yunt ZX, Chung JH, Hobbs S, et al. High resolution computed tomography pattern of usual interstitial pneumonia in rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease: Relationship to survival. *Respir Med* 2017;126:100-4.
30. Ytterberg AJ, Joshua V, Reynisdottir G, et al. Shared immunological targets in the lungs and joints of patients with rheumatoid arthritis: identification and validation. *Ann Rheum Dis* 2015;74:1772-7.
31. Solomon JJ, Chung JH, Cosgrove GP, et al. Predictors of mortality in rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease. *Eur Respir J* 2016;47:588-96.
32. Dixon WG, Hyrich KL, Watson KD, et al. Influence of anti-TNF therapy on mortality in patients with rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease: results from the British Society for Rheumatology Biologics Register. *Ann Rheum Dis* 2010;69:1086-91.
33. Solomon JJ, Ryu JH, Tazelaar HD, et al. Fibrosing interstitial pneumonia predicts survival in patients with rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease (RA-ILD). *Respir Med* 2013;107:1247-52.
34. Kinder AJ, Hassell AB, Brand J, Brownfield A, Grove M, Shadforth MF. The treatment of inflammatory arthritis with methotrexate in clinical practice: treatment duration and incidence of adverse drug reactions. *Rheumatology (Oxford)* 2005;44:61-6.
35. Casanova MJ, Chaparro M, Valenzuela C, Cisneros C, Gisbert JP. Adalimumab-induced interstitial pneumonia in a patient with Crohn's disease. *World J Gastroenterol* 2015;21:2260-2.
36. Leger S, Etienne M, Duval-Modeste AB, Roussel A, Caron F, Thiberville L. [Interstitial pneumonia after infliximab therapy for psoriasis]. *Ann Dermatol Venereol* 2011;138:499-503.

37. Perez-Alvarez R, Perez-de-Lis M, Diaz-Lagares C, et al. Interstitial lung disease induced or exacerbated by TNF-targeted therapies: analysis of 122 cases. *Semin Arthritis Rheum* 2011;41:256-64.
38. Liote H, Liote F, Seroussi B, Mayaud C, Cadranel J. Rituximab-induced lung disease: A systematic literature review. *Eur Respir J* 2010;35:681-7.
39. Fernandez-Diaz C, Loricera J, Castaneda S, et al. Abatacept in patients with rheumatoid arthritis and interstitial lung disease: A national multicenter study of 63 patients. *Semin Arthritis Rheum* 2018.
40. Roschmann RA, Rothenberg RJ. Pulmonary fibrosis in rheumatoid arthritis: a review of clinical features and therapy. *Semin Arthritis Rheum* 1987;16:174-85.
41. Ascherman DP. Interstitial lung disease in rheumatoid arthritis. *Curr Rheumatol Rep* 2010;12:363-9.
42. Fautrel B, Cukierman G, Joubert JM, Laurendeau C, Gourmelen J, Fagnani F. Characteristics and management of rheumatoid arthritis in France: Analysis of a representative French national claims database resulting in an estimated prevalence of 0.35. *Joint Bone Spine* 2016;83:461-2.
43. Duchemann B, Annesi-Maesano I, Jacobe de Naurois C, et al. Prevalence and incidence of interstitial lung diseases in a multi-ethnic county of Greater Paris. *Eur Respir J* 2017;50.
44. Seibold MA, Wise AL, Speer MC, et al. A common MUC5B promoter polymorphism and pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2011;364:1503-12.
45. Zhang Y, Noth I, Garcia JG, Kaminski N. A variant in the promoter of MUC5B and idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2011;364:1576-7.
46. Fingerlin TE, Murphy E, Zhang W, et al. Genome-wide association study identifies multiple susceptibility loci for pulmonary fibrosis. *Nat Genet* 2013;45:613-20.
47. Helling BA, Gerber AN, Kadiyala V, et al. Regulation of MUC5B Expression in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2017;57:91-9.
48. Evans CM, Fingerlin TE, Schwarz MI, et al. Idiopathic Pulmonary Fibrosis: A Genetic Disease That Involves Mucociliary Dysfunction of the Peripheral Airways. *Physiol Rev* 2016;96:1567-91.
49. Johnson C, Giles JT, Bathon J, Danoff SK. Exploration of the MUC5B polymorphism frequency in rheumatoid arthritis interstitial lung disease. A42 INTERSTITIAL LUNG DISEASE: EPIDEMIOLOGY, EVALUATION AND PATHOGENESIS: American Thoracic Society; 2013:A5982-A.
50. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988;31:315-24.
51. 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 Rheum* 2010;62:2569-81.
52. Raghu G, Collard HR, Egan JJ, et al. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: idiopathic pulmonary fibrosis: evidence-based guidelines for diagnosis and management. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;183:788-824.
53. Noth I, Zhang Y, Ma SF, et al. Genetic variants associated with idiopathic pulmonary fibrosis susceptibility and mortality: a genome-wide association study. *Lancet Respir Med* 2013;1:309-17.
54. Fingerlin TE, Zhang W, Yang IV, et al. Genome-wide imputation study identifies novel HLA locus for pulmonary fibrosis and potential role for auto-immunity in fibrotic idiopathic interstitial pneumonia. *BMC Genet* 2016;17:74.

55. Akaike H. Factor analysis and AIC. Selected Papers of Hirotugu Akaike: Springer; 1987:371-86.
56. Zhu J, Zhou Y, Chen X, Li J. A metaanalysis of the increased risk of rheumatoid arthritis-related pulmonary disease as a result of serum anticitrullinated protein antibody positivity. *J Rheumatol* 2014;41:1282-9.
57. Okada Y, Wu D, Trynka G, et al. Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. *Nature* 2014;506:376-81.
58. Borie R, Crestani B, Dieude P, et al. The MUC5B variant is associated with idiopathic pulmonary fibrosis but not with systemic sclerosis interstitial lung disease in the European Caucasian population. *PLoS One* 2013;8:e70621.
59. Lee MG, Lee YH. A meta-analysis examining the association between the MUC5B rs35705950 T/G polymorphism and susceptibility to idiopathic pulmonary fibrosis. *Inflamm Res* 2015;64:463-70.
60. Johnson C, Rosen P, Lloyd T, et al. Exploration of the MUC5B promoter variant and ILD risk in patients with autoimmune myositis. *Respir Med* 2017;130:52-4.
61. Ley B, Newton CA, Arnould I, et al. The MUC5B promoter polymorphism and telomere length in patients with chronic hypersensitivity pneumonitis: an observational cohort-control study. *Lancet Respir Med* 2017;5:639-47.
62. Namba N, Kawasaki A, Sada KE, et al. Association of MUC5B promoter polymorphism with interstitial lung disease in myeloperoxidase-antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Ann Rheum Dis* 2019.
63. Bernstein EJ, Barr RG, Austin JHM, et al. Rheumatoid arthritis-associated autoantibodies and subclinical interstitial lung disease: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Thorax* 2016;71:1082-90.
64. Gregersen PK, Gravallese EM. Breathing New Life into Interstitial Lung Disease in Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med* 2018;379:2265-6.
65. Raychaudhuri S, Sandor C, Stahl EA, et al. Five amino acids in three HLA proteins explain most of the association between MHC and seropositive rheumatoid arthritis. *Nat Genet* 2012;44:291-6.
66. Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, et al. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature* 2009;461:747-53.
67. Richeldi L, du Bois RM, Raghu G, et al. Efficacy and safety of nintedanib in idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2014;370:2071-82.
68. Noble PW, Albera C, Bradford WZ, et al. Pirfenidone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis (CAPACITY): two randomised trials. *Lancet* 2011;377:1760-9.

ORIGINAL ARTICLE

## MUC5B Promoter Variant and Rheumatoid Arthritis with Interstitial Lung Disease

P.-A. Juge, J.S. Lee, E. Ebstein, H. Furukawa, E. Dobrinskikh, S. Gazal, C. Kannengiesser, S. Ottaviani, S. Oka, S. Tohma, N. Tsuchiya, J. Rojas-Serrano, M.I. González-Pérez, M. Mejía, I. Buendía-Roldán, R. Falfán-Valencia, E. Ambrocio-Ortiz, E. Manali, S.A. Papiris, T. Karageorgas, D. Boumpas, K. Antoniou, C.H.M. van Moorsel, J. van der Vis, Y.A. de Man, J.C. Grutters, Y. Wang, R. Borie, L. Wemeau-Stervinou, B. Wallaert, R.-M. Flipo, H. Nunes, D. Valeyre, N. Saidenberg-Kermanac'h, M.-C. Boissier, S. Marchand-Adam, A. Frazier, P. Richette, Y. Allanore, J. Sibilia, C. Dromer, C. Richez, T. Schaevebeke, H. Lioté, G. Thabut, N. Nathan, S. Amselem, M. Soubrier, V. Cottin, A. Clément, K. Deane, A.D. Walts, T. Fingerlin, A. Fischer, J.H. Ryu, E.L. Matteson, T.B. Niewold, D. Assayag, A. Gross, P. Wolters, M.I. Schwarz, M. Holers, J. Solomon, T. Doyle, I.O. Rosas, C. Blauwendraat, M.A. Nalls, M.-P. Debray, C. Boileau, B. Crestani, D.A. Schwartz, and P. Dieudé

### ABSTRACT

#### BACKGROUND

Given the phenotypic similarities between rheumatoid arthritis (RA)-associated interstitial lung disease (ILD) (hereafter, RA-ILD) and idiopathic pulmonary fibrosis, we hypothesized that the strongest risk factor for the development of idiopathic pulmonary fibrosis, the gain-of-function *MUC5B* promoter variant rs35705950, would also contribute to the risk of ILD among patients with RA.

#### METHODS

Using a discovery population and multiple validation populations, we tested the association of the *MUC5B* promoter variant rs35705950 in 620 patients with RA-ILD, 614 patients with RA without ILD, and 5448 unaffected controls.

#### RESULTS

Analysis of the discovery population revealed an association of the minor allele of the *MUC5B* promoter variant with RA-ILD when patients with RA-ILD were compared with unaffected controls (adjusted odds ratio, 3.8; 95% confidence interval [CI], 2.8 to 5.2;  $P=9.7\times 10^{-17}$ ). The *MUC5B* promoter variant was also significantly overrepresented among patients with RA-ILD, as compared with unaffected controls, in an analysis of the multiethnic case series (adjusted odds ratio, 5.5; 95% CI, 4.2 to 7.3;  $P=4.7\times 10^{-35}$ ) and in a combined analysis of the discovery population and the multiethnic case series (adjusted odds ratio, 4.7; 95% CI, 3.9 to 5.8;  $P=1.3\times 10^{-49}$ ). In addition, the *MUC5B* promoter variant was associated with an increased risk of ILD among patients with RA (adjusted odds ratio in combined analysis, 3.1; 95% CI, 1.8 to 5.4;  $P=7.4\times 10^{-5}$ ), particularly among those with evidence of usual interstitial pneumonia on high-resolution computed tomography (adjusted odds ratio in combined analysis, 6.1; 95% CI, 2.9 to 13.1;  $P=2.5\times 10^{-6}$ ). However, no significant association with the *MUC5B* promoter variant was observed for the diagnosis of RA alone.

#### CONCLUSIONS

We found that the *MUC5B* promoter variant was associated with RA-ILD and more specifically associated with evidence of usual interstitial pneumonia on imaging. (Funded by Société Française de Rhumatologie and others.)

The authors' full names, academic degrees, and affiliations are listed in the Appendix. Address reprint requests to Dr. Schwartz at the University of Colorado, 12631 E. 17th Ave., B178, Aurora, CO, or at david.schwartz@ucdenver.edu; or to Dr. Dieudé at Service de Rhumatologie, Hôpital Bichat, 46 rue Henri Huchard, 75018 Paris, France, or at philippe.dieude@aphp.fr.

Drs. Juge and Lee and Drs. Schwartz and Dieudé contributed equally to this article.

This article was published on October 20, 2018, at NEJM.org.

DOI: 10.1056/NEJMoa1801562  
Copyright © 2018 Massachusetts Medical Society.

**R**HEUMATOID ARTHRITIS (RA) IS A COMMON inflammatory and autoimmune disease that is associated with progressive impairment, systemic complications, and increased mortality.<sup>1</sup> Interstitial lung disease (ILD) is detected in up to 60% of patients with RA on high-resolution computed tomography (CT), is clinically significant in 10% of cases, and is a leading cause of illness and death in patients with RA.<sup>2-6</sup>

RA-associated ILD (RA-ILD) shares several characteristics with idiopathic pulmonary fibrosis, including common environmental risk factors,<sup>7,8</sup> a high prevalence of a pattern of usual interstitial pneumonia (UIP),<sup>9</sup> progressive lung fibrosis, and poor survival.<sup>10,11</sup> In the French population, the prevalence of a UIP pattern is 3.4 to 12.1 times as high among patients with RA as in the general population (see the Supplementary Appendix, available with the full text of this article at NEJM.org).<sup>5,12-14</sup> Consequently, the occurrence of a UIP pattern in patients with RA should not be considered incidental. An exome-sequencing study showed that patients with RA-ILD had an excess of mutations in genes that were previously linked to familial interstitial pneumonia, including *TERT*, *RTEL1*, *PARN*, and *SFTPC*.<sup>15</sup>

The common gain-of-function variant rs35705950<sup>16</sup> in the promoter of *MUC5B*, encoding mucin 5B, is the strongest genetic risk factor for idiopathic pulmonary fibrosis; it is observed in at least 50% of patients with idiopathic pulmonary fibrosis and accounts for 30% of the risk of developing this disease.<sup>17-25</sup> This variant is associated with increased expression of *MUC5B* in lung parenchyma of unaffected controls and of persons with idiopathic pulmonary fibrosis.<sup>16,17</sup> Consequently, we hypothesized that the *MUC5B* promoter variant would also be associated with an increased risk of RA-ILD. To test this hypothesis, we tested the association of the *MUC5B* promoter variant with RA-ILD in eight case series in seven countries.

## METHODS

### STUDY POPULATIONS

The discovery population included patients with RA, with or without ILD as assessed by high-resolution CT of the chest, and unaffected persons, all from the French RA-ILD network.<sup>15</sup> The multiethnic replication case series were obtained from six countries (one case series each from China, Greece, Japan, Mexico, and the Netherlands and

two from the United States [designated United States–1 and United States–2]). All cases fulfilled the 2010 European League against Rheumatism–American College of Rheumatology criteria or 1987 American College of Rheumatology revised criteria for RA.<sup>26,27</sup> The ILD status of patients with RA was established by chest high-resolution CT images that were centrally reviewed by experienced readers. However, in the United States–1 case series, the absence of ILD (i.e., phenotype of RA without ILD) was determined by patient report. The chest high-resolution CT pattern was classified as UIP, possible UIP, or inconsistent with UIP, according to international criteria.<sup>28</sup> The institutional review board at each institution approved all protocols, and all patients provided written informed consent.

### GENOTYPING

Genotyping of the *MUC5B* rs35705950 single-nucleotide polymorphism involved the use of TaqMan Genotyping Assays (Applied Biosystems), as reported previously.<sup>17</sup> The additional common risk variants for idiopathic pulmonary fibrosis on 3q26, 4q22, 5p15, 6p21.3, 6p24, 7q22, 10q24, 11p15.5, 13q34, 15q14–15, and 19p13<sup>19,20,29</sup> were genotyped by a TaqMan quantitative polymerase-chain-reaction assay (Thermo Fisher Scientific).

### LUNG-TISSUE ANALYSIS

To determine whether *MUC5B* was expressed in the lung tissue of patients with RA-ILD, we analyzed lung tissue from nine patients with RA-ILD undergoing lung transplantation (University of California, San Francisco) as compared with six unaffected controls without ILD or RA (National Heart, Lung, and Blood Institute [NHLBI] Lung Tissue Research Consortium) and two controls with fibrotic ILD without RA (both with desquamative interstitial pneumonia) (NHLBI Lung Tissue Research Consortium).

### STATISTICAL ANALYSIS

Association analyses were performed with the use of logistic regression with no covariate (results are reported as crude) and with adjustment for sex, age at inclusion, smoking status (ever smoked vs. never smoked), country of origin, or a combination of these. For each *MUC5B* promoter variant association test, the best-fitting model (dominant or additive) was considered with the use of the Akaike information criterion. Interaction between the vari-

ant and smoking status was tested according to the significance of the interaction term in logistic regression. The effect of RA-ILD with a UIP or possible UIP pattern as compared with RA without ILD and of RA-ILD with a pattern inconsistent with UIP as compared with RA without ILD was assessed with the use of a z-test on the effect sizes of the logistic regression. A P value of less than 0.05 was considered to indicate statistical significance.

## RESULTS

### STUDY POPULATIONS

The discovery population included 118 patients with RA-ILD, 105 patients with RA without ILD, and 1229 unaffected controls. The multiethnic replication sample included 502 patients with RA-ILD, 509 patients with RA without ILD, and 4219 unaffected controls (Table S1 in the Supplementary Appendix).

### CHARACTERISTICS OF THE DISCOVERY POPULATION

As compared with patients with RA without ILD, those with RA-ILD were more likely to be male, were older, and were more likely to have ever smoked (54.7% vs. 36.1%) (Table 1). After adjustment for sex, patients with RA-ILD and those with RA without ILD did not differ significantly with respect to positivity for rheumatoid factor or anti-citrullinated protein antibody (yes or no), erosive status of RA (erosions present or not), exposure to methotrexate (yes or no), or the mean duration of RA from diagnosis to study inclusion. Overall, 41.0% of patients with RA-ILD had a UIP or possible UIP pattern on high-resolution CT.

### *MUC5B* PROMOTER VARIANT AND RISK OF RA-ILD

Comparison of patients with RA without ILD and controls revealed that none of the case series (discovery population and multiethnic case series) showed a significant difference in the frequency of the *MUC5B* promoter variant (Table 2 and Fig. 1A), findings that suggest a lack of association between the *MUC5B* promoter variant and RA. In the discovery population, the minor allele frequency of the *MUC5B* promoter variant was 10.9% in unaffected controls and 32.6% in patients with RA-ILD; this variant was in Hardy-Weinberg equilibrium in the discovery population. After controlling for sex, we detected a significant association between the *MUC5B* promoter variant and

RA-ILD when we compared patients with RA-ILD and unaffected controls (adjusted odds ratio, 3.8; 95% confidence interval [CI], 2.8 to 5.2;  $P=9.7\times 10^{-17}$ ) (Table 2).

The *MUC5B* promoter variant was significantly overrepresented among patients with RA-ILD, as compared with unaffected controls, in each of the multiethnic case series, except in the two Asian case series (Table 2). The *MUC5B* promoter variant is underrepresented in Asian populations; consequently, the tests for association in the two case series of Asian persons were underpowered and we did not observe a significant relationship between the *MUC5B* promoter variant and RA-ILD in these two case series.

An analysis of the multiethnic case series showed a significant association between the *MUC5B* promoter variant and RA-ILD (adjusted odds ratio, 5.5; 95% CI, 4.2 to 7.3;  $P=4.7\times 10^{-35}$ ) (Table 2 and Fig. 1B), and an analysis of all the series (discovery population together with the other case series) combined showed a similar significant association for this comparison (adjusted odds ratio, 4.7; 95% CI, 3.9 to 5.8;  $P=1.3\times 10^{-49}$ ). For the comparison with unaffected controls, the best-fitting genetic model for the three study populations (discovery population, aggregate multiethnic case series, and combined analysis) for the association of the *MUC5B* promoter variant and RA-ILD was dominant (Tables S4 through S6 in the Supplementary Appendix).

### *MUC5B* PROMOTER VARIANT AND RISK OF ILD AMONG PATIENTS WITH RA

To investigate whether the *MUC5B* promoter variant rs35705950 contributes to the risk of ILD among patients with RA, we compared patients with RA-ILD and those with RA without ILD, adjusting for sex, age at inclusion, and smoking status. In the discovery population, the *MUC5B* promoter variant was associated with RA-ILD (adjusted odds ratio, 3.1; 95% CI, 1.6 to 6.3;  $P=9.4\times 10^{-4}$ ), and this finding was replicated in the aggregate multiethnic case series (adjusted odds ratio, 2.9; 95% CI, 1.1 to 8.4;  $P=0.04$ ) as well as the combined analysis (adjusted odds ratio, 3.1; 95% CI, 1.8 to 5.4;  $P=7.4\times 10^{-5}$ ) (Table 2 and Fig. 1C). For the comparison of RA-ILD with RA without ILD, the best-fitting genetic model for the three study populations (discovery population, aggregate multiethnic case series, and combined analysis) was dominant (Table S6 in the Supple-



**Table 1. Baseline Characteristics of Patients with Rheumatoid Arthritis (RA).\***

Characteristic	RA-ILD (N=620)	RA without ILD (N=614)	Crude P Value	Adjusted P Value†‡
Female sex — no./total no. (%)	345/565 (61.1)	446/540 (82.6)	8.12×10 <sup>-15</sup>	3.7×10 <sup>-12</sup> ‡
Age at inclusion — yr	69.0±10.8	60.4±12.6	1.20×10 <sup>-24</sup>	1.3×10 <sup>-21</sup>
Age at onset of RA — yr	55.7±14.6	45.7±13.5	7.0×10 <sup>-23</sup>	5.6×10 <sup>-14</sup>
Duration of RA — yr	13.3±11.5	14.8±10.2	0.03	0.38
Age at onset of ILD — yr	62.7±11.8			
Duration of ILD — yr	4.3±4.0			
Ever smoked				
No./total no. (%)	282/516 (54.7)	168/465 (36.1)	7.59×10 <sup>-9</sup>	0.53
Pack-yr of smoking	28.0±21.8	22.4±30.7	0.07	0.37
Current smoker				
No./total no. (%)	46/415 (11.1)	67/463 (14.5)	0.14	0.06
Pack-yr of smoking	33.0±26.6	23.9±19.7	0.08	0.42
Ever used methotrexate — no./total no. (%)§	260/318 (81.8)	142/153 (92.8)	0.002	0.69
Manifestations of RA				
Positivity for ACPA or rheumatoid factor — no./total no. (%)	449/506 (88.7)	446/468 (95.3)	0.001	0.72
Erosive disease — no./total no. (%)	224/482 (46.5)	274/469 (58.4)	2.33×10 <sup>-4</sup>	0.30
Disease pattern on high-resolution CT of the chest				
UIP or possible UIP — no./total no. (%)	207/505 (41.0)			
Inconsistent with UIP — no./total no. (%)	298/505 (59.0)			
Pulmonary function				
Forced vital capacity — % of predicted value	78.2±25.0			
DLco — % of predicted value	57.6±23.4			
Total lung capacity — % of predicted value	81.3±20.3			

\* Plus–minus values are means ±SD. ACPA denotes anti–citrullinated protein antibody, CT computed tomography, DLco diffusing capacity of the lung for carbon monoxide, ILD interstitial lung disease, RA-ILD rheumatoid arthritis–associated interstitial lung disease, and UIP usual interstitial pneumonia.

† P values were adjusted for sex and country of origin, except where indicated.

‡ The P value was adjusted for country of origin only.

§ To avoid any prescription bias resulting from the co-occurrence of ILD, the methotrexate exposure was established during the period before the diagnosis of ILD.

mentary Appendix). After adjustment for covariates, no association between smoking status and risk of ILD among patients with RA was found (adjusted odds ratio, 0.7; 95% CI, 0.3 to 1.9; P=0.51) and no interaction of tobacco-smoke exposure with the MUC5B promoter variant was observed (Table S7 in the Supplementary Appendix).

#### MUC5B PROMOTER VARIANT AND UIP PATTERN

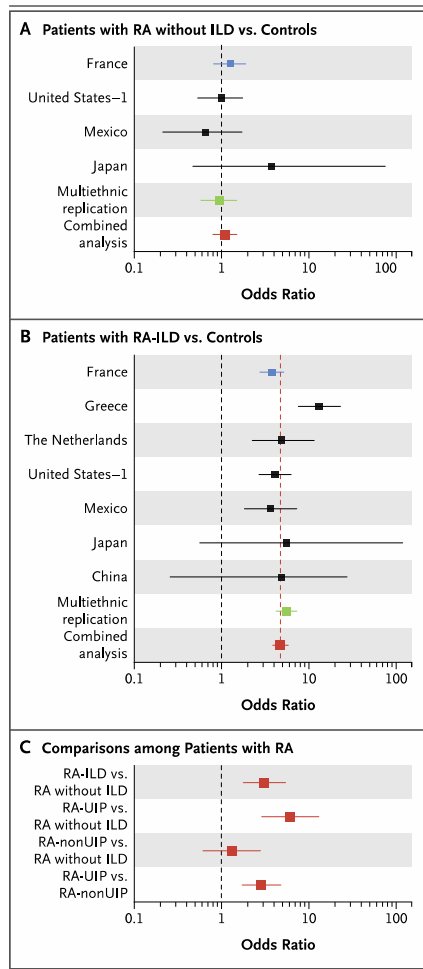
When we limited patients with RA-ILD to those with evidence (by high-resolution CT scan) of a UIP or possible UIP pattern, we observed an as-

sociation between the MUC5B promoter variant and a UIP or possible UIP pattern in the discovery population (adjusted odds ratio, 5.0; 95% CI, 2.1 to 12.3; P=3.0×10<sup>-4</sup>), in the aggregate multiethnic case series (adjusted odds ratio, 9.2; 95% CI, 2.3 to 38.7; P=0.002), and in the combined case series analysis (adjusted odds ratio, 6.1; 95% CI, 2.9 to 13.1; P=2.5×10<sup>-6</sup>) (Fig. 1C, and Table S2 in the Supplementary Appendix). In the combined analysis, the comparison of odds ratios for RA-ILD with a UIP or possible UIP pattern versus RA without ILD (adjusted odds ratio, 6.1 [noted previous-

**Table 2. Genotypic Association of MUC5B rs35705950 Single-Nucleotide Polymorphism in Patients with RA, with and without ILD, and Unaffected Controls.\***

Variable	France†	Greece	The Netherlands	United States-1	United States-2	Mexico	Japan	China	Multiethnic Replication Sample	Combined Analysis
<b>No. of persons</b>										
Controls	1229	1795	249	500	—	347	315	1013	4219	5448
RA without ILD	105	—	—	68	72	69	300	—	509	614
RA-ILD	118	56	40	99	48	55	182	22	502	620
<b>Minor allele frequency of MUC5B rs35705950 — %</b>										
Controls	10.9	3.8	9.0	10.7	—	5.3	0.2	0.8	—	—
RA without ILD	12.9	—	—	11.0	12.5	3.6	0.5	—	—	—
RA-ILD	32.6	26.8	30.0	28.8	13.5	16.4	1.1	2.3	—	—
<b>Genotypic association test</b>										
<b>RA without ILD vs. controls</b>										
Crude odds ratio for RA without ILD (95% CI)	1.2 (0.8–1.8)	—	—	1.0 (0.6–1.8)	—	0.7 (0.2–1.6)	3.2 (0.4–64.3)	—	1.0 (0.6–1.5)	1.1 (0.8–1.5)
Crude P value	0.40	—	—	0.91	—	0.42	0.32	—	0.90	0.60
Adjusted odds ratio for RA without ILD (95% CI)‡	1.3 (0.8–1.9)	—	—	1.0 (0.5–1.7)	—	0.7 (0.2–1.7)	3.7 (0.5–75.1)	—	1.0 (0.6–1.5)	1.1 (0.8–1.5)
Adjusted P value‡	0.28	—	—	0.99	—	0.42	0.26	—	0.83	0.54
<b>RA-ILD vs. controls</b>										
Crude odds ratio for RA-ILD (95% CI)	3.8 (2.8–5.2)	13.2 (7.6–22.9)	5.6 (2.9–11.2)	4.1 (2.7–6.3)	—	3.4 (1.8–6.2)	7.1 (1.0–138.6)	3.0 (0.2–15.6)	5.5 (4.2–7.2)	4.7 (3.8–5.8)
Crude P value	3.8×10 <sup>-17</sup>	2.2×10 <sup>-20</sup>	5.0×10 <sup>-7</sup>	5.8×10 <sup>-11</sup>	—	1.1×10 <sup>-4</sup>	0.08	0.30	3.9×10 <sup>-35</sup>	1.3×10 <sup>-49</sup>
Adjusted odds ratio for RA-ILD (95% CI)‡	3.8 (2.8–5.2)	13.2 (7.6–23.0)	4.9 (2.2–11.5)	4.1 (2.7–6.3)	—	3.6 (1.8–7.3)	5.5 (0.6–119.1)	4.9 (0.3–27.5)	5.5 (4.2–7.3)	4.7 (3.9–5.8)
Adjusted P value‡	9.7×10 <sup>-17</sup>	6.2×10 <sup>-20</sup>	1.2×10 <sup>-4</sup>	5.6×10 <sup>-11</sup>	—	2.2×10 <sup>-4</sup>	0.16	0.14	4.7×10 <sup>-35</sup>	1.3×10 <sup>-49</sup>
<b>RA-ILD vs. RA without ILD</b>										
Crude odds ratio for RA-ILD (95% CI)	3.8 (2.2–6.8)	—	—	5.4 (2.6–11.7)	1.1 (0.5–2.5)	5.7 (2.1–18.6)	2.2 (0.5–11.4)	—	3.1 (2.0–5.0)	3.4 (2.4–4.8)
Crude P value	5.9×10 <sup>-6</sup>	—	—	7.9×10 <sup>-6</sup>	0.80	0.002	0.30	—	5.3×10 <sup>-7</sup>	1.6×10 <sup>-11</sup>
Adjusted odds ratio for RA-ILD (95% CI)§	3.1 (1.6–6.3)	—	—	NA	NA	3.8 (1.2–13.3)	3.1 (0.3–28.0)	—	2.9 (1.1–8.4)	3.1 (1.8–5.4)
Adjusted P value§	9.4×10 <sup>-4</sup>	—	—	NA	NA	0.03	0.30	—	0.04	7.4×10 <sup>-5</sup>

\* The two case series from the United States are designated United States-1 and United States-2. CI denotes confidence interval, and RA-ILD rheumatoid arthritis–associated interstitial lung disease.  
 † The case series from France represents the discovery population.  
 ‡ P values and odds ratios were adjusted for sex and country of origin.  
 § P values and odds ratios were adjusted for sex, age at inclusion, smoking status (ever smoked vs. never smoked), and country of origin. Some odds ratios and P values are not available (NA) because not all covariates were available for adjustment.



**Figure 1.** Association of the *MUC5B* rs35705950 Promoter Variant with Rheumatoid Arthritis (RA)-Associated Interstitial Lung Disease (ILD) (RA-ILD). Shown are forest plots of odds ratios and 95% confidence intervals. The boxes indicate odds ratios, and the horizontal lines indicate 95% confidence intervals for the best-fitting genetic model (dominant or additive) for each association test. The black dashed line represents a mean odds ratio value of 1. The red boxes and red lines indicate the overall odds ratios and 95% confidence intervals, respectively. The case series from France represents the discovery population. For comparisons between patients with RA and controls, the associations were adjusted for the country of origin and sex. For comparisons among patients with RA, the associations were adjusted for the country of origin, sex, age at inclusion, and smoking status. Panel A shows a lack of association of the *MUC5B* promoter variant rs35705950 with RA without ILD. Panel B shows an additive genotypic association of the *MUC5B* promoter variant rs35705950 with RA-ILD. The red dashed line represents the mean overall odds ratio value. In Panels A and B, United States-1 indicates one of two case series from the United States. Panel C shows a dominant genotypic association of the *MUC5B* promoter variant rs35705950 with ILD among patients with RA and those with a pattern of usual interstitial pneumonia (UIP) or possible UIP. RA-UIP denotes RA-ILD and a UIP or possible UIP pattern, and RA-nonUIP denotes RA-ILD and a pattern inconsistent with UIP.

ly]) and RA-ILD with a pattern inconsistent with UIP versus RA without ILD (adjusted odds ratio, 1.3; 95% CI, 0.6 to 2.8;  $P=0.46$ ) was significant ( $P=0.02$ ), a finding that suggests that the effect of the *MUC5B* promoter variant was restricted to the subphenotype of RA-ILD with a UIP or possible UIP pattern (Fig. 1C, and Tables S2 and S3 in the Supplementary Appendix).

The *MUC5B* promoter variant was associated with an increased risk of a UIP pattern among patients with RA-ILD through a dominant model in the discovery population, aggregate multiethnic case series, and combined analysis; the odds of

having a UIP or possible UIP pattern among patients with RA-ILD who carried at least one *MUC5B* risk allele were 2.9 times as high as those among persons who had the GG genotype (adjusted odds ratio, 2.9; 95% CI, 1.7 to 4.8;  $P=5.1 \times 10^{-5}$ ) (Table 3 and Fig. 1C, and Fig. S1 in the Supplementary Appendix). After adjusting for covariates, we observed no effect of tobacco smoking on the association of the *MUC5B* promoter variant and UIP pattern of RA-ILD (Table S7 in the Supplementary Appendix).

#### SITES OF *MUC5B* EXPRESSION IN RA-ILD

Similar to observations of *MUC5B* expression in the lungs of persons with idiopathic pulmonary fibrosis,<sup>17</sup> staining of the lung tissue of patients with RA-ILD showed *MUC5B* in the cytoplasm of bronchioles and in areas of microscopic honeycombing, including in the metaplastic epithelia lining the honeycomb cysts and mucus within cysts, which presumably produce mucus containing *MUC5B* (Fig. 2, and Fig. S2 in the Supplementary Appendix). *MUC5B* expression was lim-

ited to mucus and the epithelium in the bronchioles in unaffected controls and in patients with desquamative interstitial pneumonia (Fig. S2 in the Supplementary Appendix). In this small sample, there were no obvious differences in *MUC5B* expression according to genotype.

#### RA-ILD AND OTHER RISK VARIANTS FOR IDIOPATHIC PULMONARY FIBROSIS

Having provided evidence for the contribution of the dominant genetic risk variant for idiopathic pulmonary fibrosis to RA-ILD, we decided to test the association of RA-ILD with 12 additional common risk variants for idiopathic pulmonary fibrosis (Table S8 in the Supplementary Appendix).<sup>19,20,29</sup> This exploratory study included 272 patients with RA-ILD and 242 with RA without ILD from the France and Mexico case series and the first case series in the United States. In light of the relatively small sample and low power of detection (Table S8 in the Supplementary Appendix), corresponding P values, odds ratios, and 95% confidence intervals for the 12 candidate variants were considered to be descriptive and Bonferroni correction was therefore not applied (Table S9 in the Supplementary Appendix). In the comparison between patients with RA-ILD and those with RA without ILD, 2 common risk variants for idiopathic pulmonary fibrosis — *TOLLIP* rs5743890 and *IVD* rs2034650 — showed some evidence of association with RA-ILD, and the directionality of these relationships was consistent with that observed in persons with idiopathic pulmonary fibrosis.<sup>19,20</sup>

#### DISCUSSION

We found that the *MUC5B* promoter variant rs35705950, the strongest genetic risk factor for idiopathic pulmonary fibrosis, was also a strong risk factor for RA-ILD, especially among patients with evidence of a UIP pattern on imaging. The effect of the *MUC5B* promoter variant on the development of ILD in patients with RA was similar in magnitude and direction to that observed in patients with idiopathic pulmonary fibrosis.<sup>17,30</sup> However, the *MUC5B* promoter variant does not appear to be a risk factor for the development of RA, a finding supported by previous genomewide association studies involving patients with RA.<sup>31</sup> In aggregate, our results suggest that RA consists of genetic subphenotypes and that the *MUC5B* pro-

motor variant is associated with an increased risk of RA-ILD.

The relationship between the *MUC5B* promoter variant and RA-ILD appears to be specific to the UIP pattern and not generalizable to other autoimmune conditions of the lung. The *MUC5B* promoter variant has not been found to be associated with a risk of ILDs associated with systemic sclerosis or autoimmune myositis.<sup>21,24,32</sup> Unlike these other types of ILD, RA-ILD shares characteristics with idiopathic pulmonary fibrosis. These include an increased prevalence of the UIP pattern (radiologic and histologic); an increased prevalence of male sex and older age<sup>33</sup>; rare variants in *TERT*, *RTEL1*, *PARN*, and *SFTPC*<sup>15</sup>; and now the *MUC5B* promoter variant rs35705950. In aggregate, these findings suggest shared pathogenic pathways between RA-ILD and idiopathic pulmonary fibrosis.<sup>34</sup>

Moreover, the *MUC5B* promoter variant may prove to be a generalized risk factor for UIP disease and not simply limited to idiopathic pulmonary fibrosis and RA-ILD. In fact, emerging studies have identified the *MUC5B* promoter variant as a risk factor for chronic hypersensitivity pneumonitis,<sup>35</sup> another condition known to have a subphenotype of a UIP pattern. Because the presence of ILD and the UIP pattern of fibrosis is underestimated on high-resolution CT scans, our point estimates for an association with the *MUC5B* promoter variant are probably conservative.<sup>36</sup> As has been proposed for idiopathic pulmonary fibrosis,<sup>37</sup> the *MUC5B* promoter variant could be used to identify early forms of RA-ILD.

The results of our exploratory study suggest a possible contribution of both *TOLLIP* rs5743890 and *IVD* rs2034650 to RA-ILD; the associations with RA-ILD were of the same direction and magnitude to those reported in idiopathic pulmonary fibrosis.<sup>19,20</sup> However, these findings are tentative and require further tests of replication in independent sets of patients and controls.

Our work on understanding the genetic architecture of RA-ILD has resulted in several observations. First, RA-ILD is a complex genetic phenotype, with the minor allele of the *MUC5B* promoter variant rs35705950 identified as a risk factor for the disease. The point estimates for the association of the *MUC5B* promoter variant with RA-ILD are equivalent to those observed with idiopathic pulmonary fibrosis<sup>17</sup> and are substantively higher than those for the most common other risk factors for RA-ILD, including cigarette smoking<sup>7,38,39</sup>

**Table 3. Dominant Genotypic Association of MUC5B rs35705950 Single-Nucleotide Polymorphism in Patients with RA-ILD and a Pattern of Usual Interstitial Pneumonia (UIP) or Possible UIP and in Patients with RA-ILD and a Pattern Inconsistent with UIP.\***

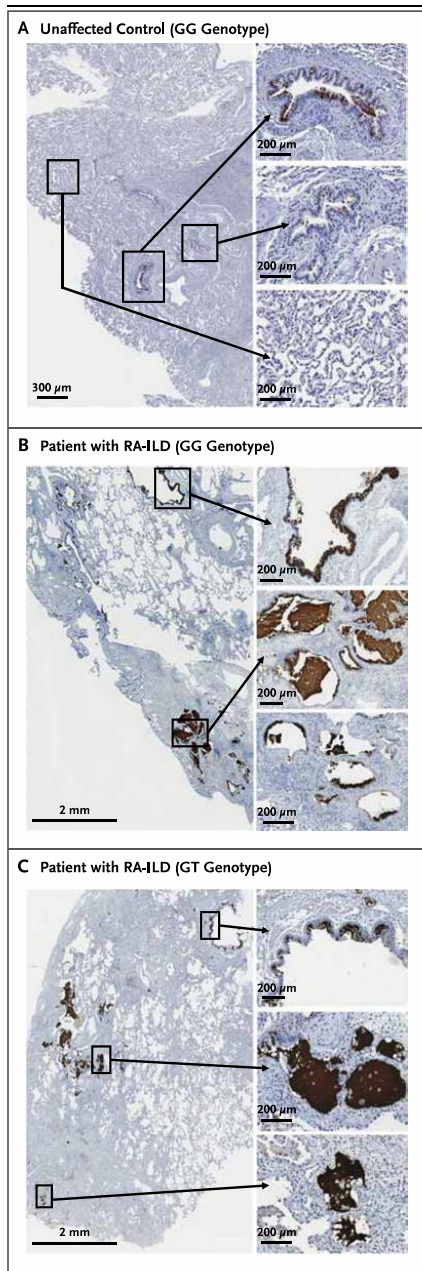
Variable	France†	Greece	The Netherlands	United States–1	Mexico	Japan	China	Multietnic Replication Sample	Combined Analysis
<b>No. of patients</b>									
RA-ILD with UIP or possible UIP pattern	50	18	18	34	19	60	8	157	207
RA-ILD with pattern inconsistent with UIP	31	38	22	42	36	122	7	267	298
<b>Minor allele frequency of MUC5B rs35705950 — %</b>									
RA-ILD with UIP or possible UIP pattern	34.0	36.1	33.3	33.8	28.9	1.7	0	—	—
RA-ILD with pattern inconsistent with UIP	12.9	21.1	25.0	23.8	8.3	0.8	7.1	—	—
<b>Genotypic association test</b>									
Crude odds ratio for RA-ILD with UIP or possible UIP pattern (95% CI)	6.1 (2.3–17.5)	3.6 (1.1–13.1)	2.0 (0.6–7.6)	2.3 (0.9–6.0)	6.9 (2.0–26.0)	2.1 (0.2–17.6)	NA‡	2.9 (1.7–5.0)	3.5 (2.2–5.6)
Crude P value	3.9×10 <sup>-4</sup>	0.04	0.29	0.08	0.003	0.47	1.0	1.5×10 <sup>-4</sup>	3.6×10 <sup>-7</sup>
Adjusted odds ratio for RA-ILD with UIP or possible UIP pattern (95% CI)§	4.9 (1.8–14.6)	2.9 (0.8–12.1)	1.6 (0.4–6.7)	2.1 (0.7–6.3)	3.8 (0.9–16.8)	NA‡	NA‡	2.3 (1.3–4.1)	2.9 (1.7–4.8)
Adjusted P value¶	0.003	0.12	0.51	0.18	0.07	0.99	1.0	0.006	5.1×10 <sup>-5</sup>

\* Patients with RA-ILD and a pattern inconsistent with UIP had the following patterns on high-resolution computed tomography: nonspecific interstitial pneumonia, organizing pneumonia, or unclassifiable ILD.

† The case series from France represents the discovery population.

‡ Odds ratios are not available (NA) because of the small proportion of carriers with risk genotypes.

§ P values and odds ratios were adjusted for sex, age at inclusion, smoking status (ever smoked vs. never smoked), and country of origin.



**Figure 2. MUC5B Expression in Explanted Lung Tissue from Patients with RA-ILD and an Unaffected Control.** Shown are representative lung-tissue images from an unaffected control with a GG genotype (Panel A), a patient with RA-ILD and a GG genotype (Panel B), and a patient with RA-ILD and a GT genotype (Panel C). Panel A includes a low-power view (left) of normal lung, top and middle insets with a high-power view of bronchiole with MUC5B staining, and a bottom inset with a high-power view of alveolar epithelia. Panels B and C each include a low-power view (left) of the UIP pattern in explanted lung tissue, a top inset with a high-power view of bronchiole with MUC5B staining, and middle and bottom insets with a high-power view of MUC5B staining in metaplastic epithelia lining honeycomb cysts and MUC5B staining of mucus in honeycomb cysts.

and the human leukocyte antigen locus for RA.<sup>31,40</sup> Second, our findings, together with those of others,<sup>18,20-25,35</sup> suggest that the *MUC5B* promoter variant is a risk factor for the UIP pattern in general. Third, our findings suggest that the *MUC5B* promoter variant could be used to detect preclinical ILD in patients with RA. Fourth, non-*MUC5B* risk variants for idiopathic pulmonary fibrosis might also contribute to the genetic background of RA-ILD. Given the shared genetic background between idiopathic pulmonary fibrosis and RA-ILD in general and RA-ILD with a UIP or possible UIP pattern in particular, we would propose that drugs that are known to be effective in treating patients with idiopathic pulmonary fibrosis be evaluated in the treatment of RA-ILD.<sup>41,42</sup>

Supported by grants from Société Française de Rhumatologie; Fondation Arthritis; Département Hospitalo-Universitaire Fibrose Inflammation Remodelage; National Heart, Lung, and Blood Institute (UH2/3-HL123442, R01-HL097163, R21/R33-HL120770, P01-HL092870, and K23-HL138131); National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases (K23-AR051046); National Institute of Allergy and Infectious Diseases (U01-AI101981); U.S. Department of Defense (W81XWH-17-1-0597); National Center for Advancing Translational Science (UCSF-CTI KL2TR000143); the Nina Ireland Program for Lung Health; the Intramural Research Program of the National Institute on Aging, part of the National Institutes of Health, Department of Health and Human Services (Z01-AG000949-02); and the Japanese Society for the Promotion of Science.

Disclosure forms provided by the authors are available with the full text of this article at NEJM.org.

We thank Drs. Leonidas Stefanis, Lykourgos Kolilekas, and Eleanna Kara and the staff of the rheumatology outpatient clinic of Attikon University Hospital for their assistance; Mrs. Corine Bensimon for setting up the database; and all the patients who participated in this study.



APPENDIX

The authors' full names and academic degrees are as follows: Pierre-Antoine Juge, M.D., Joyce S. Lee, M.D., Esther Ebstein, M.D., Hiroshi Furukawa, M.D., Ph.D., Evgenia Dobrinskikh, Ph.D., Steven Gazal, Ph.D., Caroline Kannengiesser, Pharm.D., Ph.D., Sébastien Ottaviani, M.D., Shomi Oka, Ph.D., Shigeto Tohma, M.D., Naoyuki Tsuchiya, M.D., Ph.D., Jorge Rojas-Serrano, M.D., Ph.D., Montserrat I. González-Pérez, M.D., Mayra Mejía, M.D., Ivette Buendía-Roldán, M.D., Ramcés Falfán-Valencia, Ph.D., Enrique Ambrocio-Ortiz, M.D., Effrosyni Manali, M.D., Ph.D., Spyros A. Papiris, M.D., Ph.D., Theofanis Karageorgas, M.D., Ph.D., Dimitrios Boumpas, M.D., Ph.D., Katarina Antoniou, M.D., Ph.D., Coline H.M. van Moorsel, Ph.D., Joanne van der Vis, B.Sc., Yaël A. de Man, B.Sc., Jan C. Grutters, M.D., Ph.D., Yaping Wang, M.D., Raphaël Borie, M.D., Ph.D., Lidwine Wemeau-Sterviniou, M.D., Benoît Wallaert, M.D., Ph.D., René-Marc Flipo, M.D., Ph.D., Hilario Nunes, M.D., Ph.D., Dominique Valeyre, M.D., Ph.D., Nathalie Saldenberg-Kermanac'h, M.D., Ph.D., Marie-Christophe Boissier, M.D., Ph.D., Sylvain Marchand-Adam, M.D., Ph.D., Aline Frazier, M.D., Pascal Richette, M.D., Ph.D., Yannick Allanore, M.D., Ph.D., Jean Sibilia, M.D., Ph.D., Claire Dromer, M.D., Ph.D., Christophe Richez, M.D., Ph.D., Thierry Schaeverbeke, M.D., Ph.D., Huguette Lioté, M.D., Gabriel Thabut, M.D., Ph.D., Nadia Nathan, M.D., Serge Amselem, M.D., Ph.D., Martin Soubrier, M.D., Ph.D., Vincent Cottin, M.D., Ph.D., Anniek Clément, M.D., Ph.D., Kevin Deane, M.D., Ph.D., Avram D. Walts, M.S., Tasha Fingerlin, Ph.D., Aryeh Fischer, M.D., Jay H. Ryu, M.D., Eric L. Matteson, M.D., M.P.H., Timothy B. Niewold, M.D., Deborah Assayag, M.D., Andrew Gross, M.D., Paul Wolters, M.D., Marvin I. Schwarz, M.D., Michael Holers, M.D., Ph.D., Joshua Solomon, M.D., Tracy Doyle, M.D., Ivan O. Rosas, M.D., Cornelis Blauwendraat, Ph.D., Mike A. Nalls, Ph.D., Marie-Pierre Debray, M.D., Catherine Boileau, Pharm.D., Ph.D., Bruno Crestani, M.D., Ph.D., David A. Schwartz, M.D., and Philippe Dieudé, M.D., Ph.D.

The authors' affiliations are as follows: Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP), Hôpital Bichat-Claude Bernard, Departments of Rheumatology (P.-A.J., E.E., S. Ottaviani, P.D.), Genetics (C.K., C. Boileau), Pulmonology A (R.B., B.C.), Pulmonology B (G.T.), and Radiology (M.-P.D.), Département Hospitalo-Universitaire Fibrose Inflammation Remodelage, INSERM Unité Mixte de Recherche (UMR) 1152, Université Paris Diderot (P.-A.J., C.K., R.B., G.T., B.C., P.D.), Arthritis Recherche et Développement (P.-A.J.), AP-HP, Hôpital Lariboisière, Service de Rhumatologie (A. Frazier, P.R.), INSERM, UMR 1132 (P.R.), AP-HP, Hôpital Cochin, Service de Rhumatologie A, and INSERM, Unité 1016, UMR 8104 (Y.A.), AP-HP, Hôpital Tenon, Service de Pneumologie (H.L.), AP-HP, Service de Pneumologie Pédiatrique et Centre de Référence des Maladies Respiratoires Rares, and INSERM UMR S933 (N.N., S.A., A.C.), and AP-HP, Département de Génétique, Hôpital Trousseau (S.A.), Paris, Centre Hospitalier Régional Universitaire (CHRU) de Lille, Service de Pneumologie et Immuno-Allergologie, Centre de Compétence des Maladies Pulmonaires Rares, Fédération Hospitalo-Universitaire Immune-Mediated Inflammatory Diseases and Targeted Therapies (L.W.-s., B.W.), and Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Lille, Service de Rhumatologie (R.-M.F.), Lille, the Departments of Pulmonology (H.N., D.V.) and Rheumatology (N.S.-K., M.-C.B.), Hôpital Avicenne, AP-HP, INSERM UMR 1125 (N.S.-K., M.-C.B.), and Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité (N.S.-K., M.-C.B.), Bobigny, the Department of Pulmonology, CHRU Tours, Tours (S.M.-A.), CHRU de Strasbourg, Service de Rhumatologie, Hôpital de Haute-pierre, INSERM UMR S1109, and Laboratoire d'Immuno-Rhumatologie Moléculaire, Centre de Recherche en Histoire des Idées, Fédération de Médecine Translationnelle de Strasbourg, Université de Strasbourg, Strasbourg (J. Sibilia), Service de Pneumologie (C.D.) and Service de Rhumatologie (C.R., T.S.), CHU de Bordeaux, and ImmunoConcEpT, Centre National de la Recherche Scientifique UMR 5164 (C.R., T.S.), Bordeaux, CHU Clermont-Ferrand, Service de Rhumatologie, Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), UMR 1019, Unité de Nutrition Humaine, Centre de Recherche en Nutrition Humaine Auvergne, Clermont-Ferrand (M.S.), and Hospices Civils de Lyon, Hôpital Louis Pradel, Centre National de Référence des Maladies Pulmonaires Rares, and INRA, UMR 754, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, (V.C.) — all in France; the Departments of Medicine (J.S.L., E.D., K.D., A.D.W., A. Fischer, M.I.S., M.H., D.A.S.) and Immunology and Microbiology (D.A.S.), University of Colorado School of Medicine, Aurora, and the Departments of Biomedical Research (T.F.) and Medicine (J. Solomon), National Jewish Health, Denver — both in Colorado; the Molecular and Genetic Epidemiology Laboratory, Faculty of Medicine, University of Tsukuba, Tsukuba (H.F., S. Oka, N.T.), and the Clinical Research Center for Allergy and Rheumatology, National Hospital Organization Sagami-hara National Hospital, Sagami-hara (H.F., S. Oka, S.T.) — both in Japan; the Department of Epidemiology, Harvard T.H. Chan School of Public Health (S.G.), and the Department of Medicine, Brigham and Women's Hospital (T.D., I.O.R.), Boston, and the Program in Medical and Population Genetics, Broad Institute of MIT and Harvard, Cambridge (S.G.) — all in Massachusetts; the Interstitial Lung Disease and Rheumatology Unit (J.R.-S., M.I.G.-P., M.M., I.B.-R.) and the HLA Laboratory (R.F.-V., E.A.-O.), Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas, Mexico City; the 2nd Pulmonary Medicine Department (E.M., S.A.P.) and the Rheumatology and Clinical Immunology Unit, 4th Department of Internal Medicine (T.K., D.B.), University Hospital of Athens “Attikon,” National and Kapodistrian University of Athens, Athens, and the Department of Respiratory Medicine and the Laboratory of Molecular and Cellular Pneumology, Faculty of Medicine, University of Crete, Crete (K.A.) — both in Greece; St. Antonius ILD Center of Excellence, St. Antonius Ziekenhuis, Nieuwegein, the Netherlands (C.H.M.M., J.V., Y.A.M., J.C.G.); the Department of Medical Genetics, Nanjing University School of Medicine, Nanjing, China (Y.W.); the Divisions of Pulmonary and Critical Care Medicine (J.H.R.) and Rheumatology (E.L.M.), Mayo Clinic College of Medicine and Science, Rochester, MN; the Colton Center for Autoimmunity, New York University School of Medicine, New York (T.B.N.); the Department of Medicine, McGill University, Montreal (D.A.); the Department of Medicine, University of California, San Francisco, San Francisco (A.G., P.W.); and Data Tecnica International, Glen Echo, and the Laboratory of Neurogenetics, National Institute on Aging, Bethesda — both in Maryland (C. Blauwendraat, M.A.N.).

REFERENCES

1. McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 2011;365:2205-19.
2. Olson AL, Swigris JJ, Sprunger DB, et al. Rheumatoid arthritis-interstitial lung disease-associated mortality. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;183:372-8.
3. Bongartz T, Nannini C, Medina-Velasquez YF, et al. Incidence and mortality of interstitial lung disease in rheumatoid arthritis: a population-based study. *Arthritis Rheum* 2010;62:1583-91.
4. Koduri G, Norton S, Young A, et al. Interstitial lung disease has a poor prognosis in rheumatoid arthritis: results from an inception cohort. *Rheumatology (Oxford)* 2010;49:1483-9.
5. Gabbay E, Tarala R, Will R, et al. Interstitial lung disease in recent onset rheumatoid arthritis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:528-35.
6. Hyltdgaard C, Hilberg O, Pedersen AB, et al. A population-based cohort study of rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease: comorbidity and mortality. *Ann Rheum Dis* 2017;76:1700-6.
7. Kelly CA, Saravanan V, Nisar M, et al.

# Annexe 1 : Article original “MUC5B Promoter Variant and Rheumatoid Arthritis with Interstitial Lung Disease”, Juge et al, New England Journal of Medicine, 2018

## MUC5B AND RA WITH INTERSTITIAL LUNG DISEASE

- Rheumatoid arthritis-related interstitial lung disease: associations, prognostic factors and physiological and radiological characteristics — a large multicentre UK study. *Rheumatology (Oxford)* 2014; 53:1676-82.
8. Assayag D, Lubin M, Lee JS, King TE, Collard HR, Ryerson CJ. Predictors of mortality in rheumatoid arthritis-related interstitial lung disease. *Respirology* 2014; 19:493-500.
  9. Kim EJ, Collard HR, King TE Jr. Rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease: the relevance of histopathologic and radiographic pattern. *Chest* 2009; 136:1397-405.
  10. Kim EJ, Elicker BM, Maldonado F, et al. Usual interstitial pneumonia in rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease. *Eur Respir J* 2010; 35:1322-8.
  11. Solomon JJ, Chung JH, Cosgrove GP, et al. Predictors of mortality in rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease. *Eur Respir J* 2016; 47:588-96.
  12. Duchemann B, Annesi-Maesano I, Jacobe de Naurois C, et al. Prevalence and incidence of interstitial lung diseases in a multi-ethnic county of Greater Paris. *Eur Respir J* 2017; 50(2):pii:1602419.
  13. Fautrel B, Cukierman G, Joubert JM, Laurendeau C, Gourmelen J, Fagnani F. Characteristics and management of rheumatoid arthritis in France: analysis of a representative French national claims database resulting in an estimated prevalence of 0.35. *Joint Bone Spine* 2016; 83:461-2.
  14. Saag KG, Kolluri S, Koehnke RK, et al. Rheumatoid arthritis lung disease: determinants of radiographic and physiologic abnormalities. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 1711-9.
  15. Juge PA, Borie R, Kannengiesser C, et al. Shared genetic predisposition in rheumatoid arthritis-interstitial lung disease and familial pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 2017; 49(5):pii:1602314.
  16. Helling BA, Gerber AN, Kadiyala V, et al. Regulation of MUC5B expression in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2017; 57:91-9.
  17. Seibold MA, Wise AL, Speer MC, et al. A common MUC5B promoter polymorphism and pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2011; 364:1503-12.
  18. Zhang Y, Noth I, Garcia JG, Kaminski N. A variant in the promoter of MUC5B and idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2011; 364:1576-7.
  19. Fingerlin TE, Murphy E, Zhang W, et al. Genome-wide association study identifies multiple susceptibility loci for pulmonary fibrosis. *Nat Genet* 2013; 45:613-20.
  20. Noth I, Zhang Y, Ma SF, et al. Genetic variants associated with idiopathic pulmonary fibrosis susceptibility and mortality: a genome-wide association study. *Lancet Respir Med* 2013; 1:309-17.
  21. Borie R, Crestani B, Dieude P, et al. The MUC5B variant is associated with idiopathic pulmonary fibrosis but not with systemic sclerosis interstitial lung disease in the European Caucasian population. *PLoS One* 2013; 8(8):e70621.
  22. Horimatsu Y, Ohshimo S, Bonella F, et al. MUC5B promoter polymorphism in Japanese patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Respirology* 2015; 20:439-44.
  23. Stock CJ, Sato H, Fonseca C, et al. Mucin 5B promoter polymorphism is associated with idiopathic pulmonary fibrosis but not with development of lung fibrosis in systemic sclerosis or sarcoidosis. *Thorax* 2013; 68:436-41.
  24. Lee MG, Lee YH. A meta-analysis examining the association between the MUC5B rs35705950 T/G polymorphism and susceptibility to idiopathic pulmonary fibrosis. *Inflamm Res* 2015; 64:463-70.
  25. van der Vis JJ, Snetselaar R, Kazemier KM, ten Klooster L, Grutters JC, van Moorsel CH. Effect of Muc5b promoter polymorphism on disease predisposition and survival in idiopathic interstitial pneumonias. *Respirology* 2016; 21:712-7.
  26. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31:315-24.
  27. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis* 2010; 69:1580-8.
  28. Raghu G, Collard HR, Egan JJ, et al. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: idiopathic pulmonary fibrosis: evidence-based guidelines for diagnosis and management. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 183:788-824.
  29. Fingerlin TE, Zhang W, Yang IV, et al. Genome-wide imputation study identifies novel HLA locus for pulmonary fibrosis and potential role for auto-immunity in fibrotic idiopathic interstitial pneumonia. *BMC Genet* 2016; 17:74.
  30. Zhu QQ, Zhang XL, Zhang SM, et al. Association between the MUC5B promoter polymorphism rs35705950 and idiopathic pulmonary fibrosis: a meta-analysis and trial sequential analysis in Caucasian and Asian populations. *Medicine (Baltimore)* 2015; 94(43):e1901.
  31. Okada Y, Wu D, Trynka G, et al. Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. *Nature* 2014; 506:376-81.
  32. Johnson C, Rosen P, Lloyd T, et al. Exploration of the MUC5B promoter variant and ILD risk in patients with autoimmune myositis. *Respir Med* 2017; 130:52-4.
  33. Assayag D, Lee JS, King TE Jr. Rheumatoid arthritis associated interstitial lung disease: a review. *Medicina (B Aires)* 2014; 74:158-65.
  34. Bernstein EJ, Barr RG, Austin JHM, et al. Rheumatoid arthritis-associated auto-antibodies and subclinical interstitial lung disease: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Thorax* 2016; 71:1082-90.
  35. Ley B, Newton CA, Arnould I, et al. The MUC5B promoter polymorphism and telomere length in patients with chronic hypersensitivity pneumonitis: an observational cohort-control study. *Lancet Respir Med* 2017; 5:639-47.
  36. Assayag D, Elicker BM, Urbana TH, et al. Rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease: radiologic identification of usual interstitial pneumonia pattern. *Radiology* 2014; 270:583-8.
  37. Hunninghake GM, Hatabu H, Okajima Y, et al. MUC5B promoter polymorphism and interstitial lung abnormalities. *N Engl J Med* 2013; 368:2192-200.
  38. Restrepo JF, del Rincón I, Battafarano DF, Haas RW, Doria M, Escalante A. Clinical and laboratory factors associated with interstitial lung disease in rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2015; 34: 1529-36.
  39. Akiyama M, Kaneko Y, Yamaoka K, Kondo H, Takeuchi T. Association of disease activity with acute exacerbation of interstitial lung disease during tocilizumab treatment in patients with rheumatoid arthritis: a retrospective, case-control study. *Rheumatol Int* 2016; 36:881-9.
  40. Raychaudhuri S, Sandor C, Stahl EA, et al. Five amino acids in three HLA proteins explain most of the association between MHC and seropositive rheumatoid arthritis. *Nat Genet* 2012; 44:291-6.
  41. Noble PW, Albera C, Bradford WZ, et al. Pirfenidone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis (CAPACITY): two randomised trials. *Lancet* 2011; 377: 1760-9.
  42. Richeldi L, du Bois RM, Raghu G, et al. Efficacy and safety of nintedanib in idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2014; 370:2071-82.

Copyright © 2018 Massachusetts Medical Society.



EDITORIAL



## Breathing New Life into Interstitial Lung Disease in Rheumatoid Arthritis

Peter K. Gregersen, M.D., and Ellen M. Gravallese, M.D.

Clinical heterogeneity is a hallmark of many autoimmune disorders, and clinical or subclinical pulmonary involvement is a common extraarticular feature of the rheumatoid arthritis (RA) phenotype. High-resolution computed tomography reveals evidence of pulmonary abnormalities in more than half of patients with RA, and clinically significant interstitial lung disease (ILD) will develop in approximately 10% of patients.<sup>1</sup> It is currently difficult to identify these patients and to intervene early in the clinical course of their lung disease.

The application of genomewide association studies to the search for common genetic variants involved in autoimmune and inflammatory diseases has produced a rich harvest of hundreds of genetic associations. However, most of these associations have low effect sizes, and practical implications for understanding, diagnosing, and treating these disorders have been extremely slow to emerge. In the case of RA, the effect of HLA genes dominates over the other 100 confirmed genetic associations.<sup>2</sup> Although HLA genes control some of the immunologic features of the disease, the effect of HLA on other clinical features, including lung disease, is modest. In fact, no clear subsets of disease have been identified from consideration of other genetic variants. The report by Juge et al. now appearing in the *Journal* provides an exciting exception to this trend.<sup>3</sup>

Genetic studies involving people with idiopathic pulmonary fibrosis have implicated a number of common and rare genetic variants in disease pathogenesis, the strongest of which is a gain-of-function promoter variant in *MUC5B* (rs35705950)<sup>4</sup>; this accounts for approximately

30 to 35% of the genetic risk of the development of idiopathic pulmonary fibrosis. Strikingly, in the current study by Juge et al. involving patients with RA, those who carried this variant had a higher risk of ILD than those who did not, with an odds ratio of 3.1 (95% confidence interval, 1.8 to 5.4), even when the researchers took into account smoking (a known risk factor for both ILD and RA), age, and sex. This promoter variant does not confer risk of interstitial pneumonia among patients with systemic sclerosis.<sup>5</sup> The increased risk that was associated with the variant was found across multiple ethnic groups (with the exception of Asians, for whom the sample sizes and the rarity of the risk allele limited statistical power), a finding that adds to the likelihood that this is indeed a causative variant. Several other common variants that have previously been associated with the risk of ILD did not show this effect in the context of RA, although the sample sizes in the current study do not provide the power to test for these more modest associations.

The pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis almost certainly involves several mechanisms, including abnormalities in surfactant secretion leading to alveolar damage, predisposition to cell senescence associated with telomere shortening, and interference with ciliary clearance. Mucins are glycosylated proteins that represent an important component of the mucus that adheres to ciliated epithelium in the lung, providing a defensive barrier, as well as a clearance mechanism for inhaled particles and pathogens. As Juge and colleagues show, the MUC5B protein is expressed in bronchiolar epithelium and in

metaplastic epithelia lining the honeycomb cysts typical of RA-associated ILD. Genetically driven overexpression of *MUC5B* may contribute to overproduction of *MUC5B* protein, with subsequent interference in ciliary clearance, or disrupt normal lung-repair mechanisms.<sup>6</sup>

Paradoxically, in addition to being associated with an elevated level of expression and risk of disease, the *MUC5B* promoter risk allele is also associated with an improved outcome in patients with idiopathic pulmonary fibrosis.<sup>7</sup> The prevalence of this allele in many populations suggests that it may be under selection pressure, perhaps driven by improved resistance to infection or enhanced tissue repair. A late-onset illness such as ILD is highly unlikely to be a major selective disadvantage.<sup>6</sup> In the event that an improved outcome of lung disease in patients with RA with the *MUC5B* risk allele is observed, one might hypothesize that other patients with RA with ILD but who lack the *MUC5B* risk allele carry more rare risk alleles in other genes acting in different pathways.

Fujii et al. have previously reported that shortened telomeres are a feature of patients with RA,<sup>8</sup> and there is evidence for accelerated telomere shortening in patients with ILD who carry risk alleles in this pathway. Moreover, in a recent small study, persons with RA and ILD who carried rare risk alleles in genes encoding proteins that regulate telomere length (*TERT*, *RTEL1*, and *PARN*) also exhibited telomere shortening.<sup>9</sup> Although there are many intriguing possibilities to explain shortened telomeres in patients with RA, the association of RA with ILD may be a partial explanation. Genes in the telomere pathway were not implicated in the genomewide association studies of RA.<sup>10</sup> Because the genotyping chips used in genomewide association do not detect rare variants, it remains possible that rare variants in this pathway cause susceptibility to RA, with or without concomitant ILD. In addition, common variants, such as *MUC5B*, may yet show up in future genomewide association studies of RA using updated genotyping platforms that better capture common variation at certain loci.

The strong association of the *MUC5B* promoter

variant with ILD in patients with RA raises the question of whether all patients with RA should be evaluated for *MUC5B* carrier status. This will be most appropriate when early detection can mandate preventive or effective therapies. On the other hand, once clinical disease is present, *MUC5B* genotyping might provide information on prognosis and, as understanding of pathogenesis improves, may guide management. Overall, the results of Juge et al. support the concept that genetics really can add to our understanding of disease heterogeneity, and the results provide hope that this approach will lead to further insights in the future.

Disclosure forms provided by the authors are available with the full text of this editorial at NEJM.org.

From the Feinstein Institute for Medical Research, Robert S. Boas Center for Genomics and Human Genetics, Manhasset, NY (P.K.G.); and the Department of Medicine, Division of Rheumatology, University of Massachusetts Medical School, Worcester (E.M.G.).

This editorial was published on October 20, 2018, at NEJM.org.

1. Olson AL, Swigris JJ, Sprunger DB, et al. Rheumatoid arthritis-interstitial lung disease-associated mortality. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;183:372-8.
2. van Drongelen V, Holoshitz J. Human leukocyte antigen-disease associations in rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 2017;43:363-76.
3. Juge P-A, Lee JS, Ebstein E, et al. *MUC5B* promoter variant and rheumatoid arthritis with interstitial lung disease. *N Engl J Med*. DOI: 10.1056/NEJMoa1801562.
4. Seibold MA, Wise AL, Speer MC, et al. A common *MUC5B* promoter polymorphism and pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2011;364:1503-12.
5. Peljto AL, Steele MP, Fingerlin TE, et al. The pulmonary fibrosis-associated *MUC5B* promoter polymorphism does not influence the development of interstitial pneumonia in systemic sclerosis. *Chest* 2012;142:1584-8.
6. Evans CM, Fingerlin TE, Schwarz MI, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis: a genetic disease that involves mucociliary dysfunction of the peripheral airways. *Physiol Rev* 2016;96:1567-91.
7. Peljto AL, Zhang Y, Fingerlin TE, et al. Association between the *MUC5B* promoter polymorphism and survival in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *JAMA* 2013;309:2232-9.
8. Fujii H, Shao L, Colmegna I, Goronzy JJ, Weyand CM. Telomerase insufficiency in rheumatoid arthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:4360-5.
9. Juge PA, Borie R, Kannengiesser C, et al. Shared genetic predisposition in rheumatoid arthritis-interstitial lung disease and familial pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 2017;49(5):pii:1602314.
10. Okada Y, Wu D, Trynka G, et al. Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. *Nature* 2014;506:376-81.

DOI: 10.1056/NEJMe1811767

Copyright © 2018 Massachusetts Medical Society.

**Introduction.** La pneumopathie interstitielle diffuse (PID) associée à la polyarthrite rhumatoïde (PR) et la fibrose pulmonaire idiopathique (FPI) partagent de nombreuses caractéristiques phénotypiques. Nous avons supposé que *MUC5B* rs35705950, principal facteur de susceptibilité génétique à la FPI, pourrait également être associé à la PR-PID. **Méthodes.** A l'aide d'une étape de découverte suivie d'une réplique multi-ethnique, nous avons testé l'association entre rs35705950 et la PR-PID en génotypant 620 patients atteints de PR-PID, 614 patients atteints PR sans PID (PR-non PID) et 5448 individus témoins. **Résultats.** Une association entre l'allèle mineur de rs35705950 et la PR-PID comparé aux individus témoins était observée dans l'étape découverte (OR=3,8 IC95 [2,8-5,2] ;  $P=9,7 \times 10^{-17}$ ), dans l'étape de réplique multi-ethnique (OR=5,5 IC95 [4,2-7,2] ;  $P=4,7 \times 10^{-37}$ ) et en combinant les deux populations (OR =4,7 IC95 [3,9-5,8] ;  $P=1,3 \times 10^{-49}$ ). De plus, rs35705950 était associé à la présence d'une PID parmi les patients atteints de PR (OR =3,1 IC95 [1,8-5,4] ;  $P=2,5 \times 10^{-5}$ ). Aucune association n'était observée en comparant la PR-non PID et la population témoin. Cette association semblait limitée à l'aspect de pneumopathie idiopathique commune (PIC) (OR =6,1 IC95 [2,9-13,1] ;  $P=2,5 \times 10^{-6}$ ). L'analyse histologique de biopsies pulmonaires de patients PR-PID retrouvait des anomalies rencontrées dans la FPI. Enfin une étude exploratoire détectait une association entre PR-PID et deux autres variants associés à la FPI (*TOLLIP* rs5743890 et *IVD* rs2034650). **Conclusion.** L'association observée dans notre étude entre *MUC5B* rs35705950 et la PR-PID confirme l'existence de caractéristiques communes entre PR-PID et FPI.

### ***MUC5B* Promoter Variant and Rheumatoid Arthritis with Interstitial Lung Disease**

**Background.** Given phenotypic similarities between rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease (RA-ILD) and idiopathic pulmonary fibrosis (IPF), we hypothesized that the strongest risk factor for the development of IPF, the gain-of-function *MUC5B* promoter variant rs35705950, would also contribute to the risk of ILD in patients with RA. **Methods.** Using a discovery population and multi-ethnic validation case series, we tested the association of the *MUC5B* promoter variant in RA-ILD (N=620), RA without ILD (N=614), and unaffected controls (N=5448). **Results.** The discovery population revealed an association of the *MUC5B* rs35705950 minor allele with RA-ILD when compared to unaffected controls (OR=3.8 95%CI[2.8-5.2];  $P=9.7 \times 10^{-17}$ ). Similar to the discovery population, *MUC5B* rs35705950 was significantly over-represented among the RA-ILD cases in the multi-ethnic study case series when compared to unaffected controls (OR=5.5 95%CI[4.2-7.2];  $P=4.7 \times 10^{-35}$ ), and when the discovery population and the multi-ethnic case series were combined (OR<sub>combined</sub>=4.7 95%CI[3.9-5.8];  $P=1.3 \times 10^{-49}$ ). Additionally, *MUC5B* rs35705950 was found to increase the risk of ILD among patients with RA (OR<sub>combined</sub>=3.1 95%CI[1.8-5.4];  $P=7.4 \times 10^{-5}$ ), however, no statistical association with *MUC5B* rs35705950 was observed for RA alone. The association of *MUC5B* rs35705950 with RA-ILD increased significantly when restricted to usual interstitial pneumonia (UIP) pattern by high-resolution computed tomography (OR<sub>combined</sub>=6.1 95%CI[2.9-13.1];  $P=2.5 \times 10^{-6}$ ). In exploratory analyses, we found that other IPF risk variants (*TOLLIP* rs5743890 and *IVD* rs2034650) were also preliminarily associated with RA-ILD. **Conclusion.** Our findings demonstrate that *MUC5B* rs35705950 is a risk factor for RA-ILD specifically associated with radiologic evidence of UIP

**Mots clés :** Polyarthrite Rhumatoïde, Pneumopathie Interstitielle Diffuse, Génétique, *MUC5B*  
**Key Words:** Rheumatoid Arthritis, Interstitial Lung Disease, Genetic, *MUC5B*

Service de Rhumatologie, INSERM UMR1152, Hôpital Bichat-Claude Bernard, APHP, Université Paris Diderot, Paris, France