

DOI:10.3724/SP.J.1008.2011.01023

• 综述 •

抗环瓜氨酸抗体检测在类风湿关节炎中的临床意义

殷健,李婷,包军,徐沪济*

第二军医大学长征医院风湿免疫科,上海 200003

[摘要] 类风湿关节炎(rheumatoid arthritis,RA)是一种主要累及全身多关节的自身免疫性疾病。目前RA仍具有很高的关节致残率和病死率。早期诊断并进行积极治疗可有效减少关节畸形的可能。近年发现的抗瓜氨酸抗体(anti-citrullinated peptide antibodies,ACPA)可在关节破坏发生前即表现出阳性,该抗体与经典的类风湿因子(rheumatoid factor,RF)相比,在RA的诊断中具有相似的敏感性,但具有更高的特异性。研究发现抗环瓜氨酸抗体(anti-cyclic citrullinated peptide antibodies)在RA的早期诊断、预后判断等方面都有重要意义,并有流行病学证据显示其可能在RA的发病中扮演重要角色。

[关键词] 类风湿关节炎;抗环瓜氨酸抗体;诊断;预后

[中图分类号] R 593.32 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2011)09-1023-04

Detection of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in patients with rheumatoid arthritis: the clinical significance

YIN Jian, LI Ting, BAO Jun, XU Hu-ji*

Department of Rheumatology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

[Abstract] Rheumatoid arthritis (RA) is an autoimmune disease involving multiple joints, and currently it still leads to high disability rate of the joints and high mortality. Early diagnosis and treatment can effectively reduce joint deformities. The recently discovered anti-citrullinated peptide antibodies(ACPA) can be detected before damage to the joints occurs. Compared with classical rheumatoid factor (RF) ACPA has higher specificity and similar sensitivity in diagnosing RA. Some studies have showned that anti-cyclic citrullinated peptide antibodies play an important role in the early diagnosis of RA and prediction of prognosis; epidemiological evidences also show that ACPA plays an important role on the pathogenesis of RA.

[Key words] rheumatoid arthritis; anti-cyclic citrullinated peptide antibodies; diagnosis; prognosis

[Acad J Sec Mil Med Univ,2011,32(9):1023-1026]

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis,RA)是一种主要累及全身多关节的自身免疫性疾病,目前仍具有较高的致残率和病死率。RA的发病机制仍未明确,近年的研究表明,瓜氨酸化现象可能与RA的发病相关^[1-2]。瓜氨酸是人体内的非编码蛋白,由精氨酸在肽基精氨酸脱亚胺酶(peptidylarginine deiminase,PAD)作用下转化而来。PAD在哺乳动物中有5个亚型;PAD1~4及PAD6。组织中的瓜氨酸化现象常发生在上皮角质化、炎症及大量细胞凋亡等病理生理过程中。关节内滑液中的炎性白细胞,包括T细胞、B细胞、巨噬细胞、中性粒细胞及成纤维细胞表达PAD2及PAD4,在正常的关节液中含有微量的瓜氨酸,而在关节炎中瓜氨酸会大量产生^[3]。1998年Schellekens等^[4]在RA中发现了针对瓜氨酸的自身抗体,这些自身抗体统一被称为抗瓜氨酸抗体(anti-citrullinated peptide antibodies,ACPA)。2000年Schellekens及其同事^[5]首先报道了用ELISA法检测抗瓜氨酸抗体。该方法采用针对环状瓜氨酸而非自然条件下的线状瓜氨酸为抗原,故将检测出的抗体称之为抗环瓜氨酸抗体(anti-cyclic

citrullinated peptide antibodies,抗CCP抗体)。第一代检测方法的特异性很高(90%以上),但是存在敏感性不足的问题(60%左右),在2003年又出现了第二代的抗CCP抗体的检测方法,其敏感性较第一代有所增加^[6]。有研究发现,在IgG型抗CCP抗体阴性的患者中,检测不到IgA及IgM型抗CCP抗体,根据此研究结果,现在检测的都是IgG型抗CCP抗体^[7]。在此基础上,近些年出现了大量有关抗CCP抗体的研究,现就抗CCP抗体在RA中的临床意义综述如下。

1 抗CCP抗体的特异度、敏感度

类风湿因子(rheumatoid factor,RF)作为经典的RA血清学指标,被列为美国风湿病学会(American College of Rheumatology,ACR)的诊断标准之一。研究发现RF对RA的特异性不高,为85%(82%~88%),相比之下,抗CCP抗体的特异性很高(95%~99%),而其敏感性为67%(62%~75%),略低于RF的69%(65%~73%)^[8-9]。根据这些研究结果,现在公认的观点是抗CCP抗体的特异性高于RF,而敏感

[收稿日期] 2011-04-12 **[接受日期]** 2011-07-12

[作者简介] 殷健,博士生. E-mail: dr.yinjian2009@gmail.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81885514, E-mail: xuhuji@smmu.edu.cn

性略逊。最近新出现了几种检测抗瓜氨酸抗体的方法,如抗突变型瓜氨酸波形蛋白(anti-mutated citrullinated vimentin, MCV)、第三代抗 CCP 抗体等。但这些方法的敏感性和特异性较第二代抗 CCP 抗体都没有提高^[10-11]。

2 抗 CCP 抗体与 RA 的早期诊断

RA 的早期治疗能有效降低关节致残率及病死率,使患者获益最大,因此早期诊断显得尤为重要。1987 年 ACR 的诊断标准^[12]是根据临床症状来诊断的,但是早期 RA 往往没有这些症状或者症状不典型。已经有数项研究证实,抗 CCP 抗体可在 RA 的首发关节症状出现前即表现为阳性,抗 CCP 抗体阳性的未分化关节炎患者发展成 RA 的可能性远远大于抗 CCP 抗体阴性者^[13-14]。Liao 等^[15]对 ACR 的诊断标准作出修改:将抗 CCP 抗体加入诊断标准中,以及将抗 CCP 抗体代替类风湿结节,结果发现,与 1987 年诊断标准^[12]相比较,第 2 种方案可以将病程 6 个月内的早期 RA 的诊断敏感性从 25%提高至 63%,而特异性仅从 86%降至 72%。2010 年,ACR 和欧洲抗风湿病联盟(EULAR)联合发表了新的 RA 的分类诊断标准^[16]。在这个指南中血清学标志物如 RF 及抗 CCP 抗体也包括在内,增加了对早期 RA 的诊断敏感性。因此,目前主流的观点认为,抗 CCP 抗体能提高 RA 的诊断敏感性和特异性,尤其是对早期 RA 诊断的敏感性。

3 抗 CCP 抗体与 RA 的关节骨质侵蚀

抗 CCP 抗体是 RA 骨质侵蚀与关节破坏的危险因素之一。Pinheiro 等^[17]研究了病程较长(>2 年)的 150 例 RA 患者发现,抗 CCP 抗体阳性与骨质侵蚀的发生及程度明显相关。Syversen 等^[18]对 238 例早期 RA 患者(<3 年)进行了为期 10 年的随访,通过多因素回归分析,他们发现抗 CCP 抗体、抗 MCV、IgM-RF、红细胞沉降率和女性是关节影像学破坏进展的危险因素。Nishimura 等^[8]对近些年关于抗 CCP 抗体的研究所做的 meta 分析显示,抗 CCP 抗体阳性对 RA 的关节破坏进展的平均相对危险度为 14.8(95%可信区间为 7.2~30.2)。关于抗 CCP 抗体的滴度是否与关节破坏有关尚存在争议。Syversen 等^[18]的研究认为:表现为高滴度的抗 CCP 抗体的 RA 患者其关节侵蚀的速度较低滴度者及阴性者更加迅速,但是 Lee 等^[19]的研究发现抗 CCP 抗体的滴度与关节破坏无关。因此,基于以上研究结果,目前比较主流的观点认为:抗 CCP 抗体阳性与否和 RA 的骨质侵蚀程度相关,而抗 CCP 抗体滴度的高低与骨质侵蚀程度的关联则尚缺乏足够的证据。

4 抗 CCP 抗体治疗前后滴度变化

Kastbom 等^[20]用抗疟药治疗 RA 患者,随访 3 年后发现抗 CCP 抗体的阳性率由 65%下降到 59%,多数患者抗 CCP 抗体经治疗仍难以转阴,但是有 35%的抗 CCP 抗体阳性患者其抗体滴度出现下降,46%的患者抗 CCP 抗体的滴度无显著变化。Rönnelid 等^[21]使用改善病情药(disease modifying anti-rheumatic drug,DMARD)来治疗早期 RA,结果发现,柳氮磺胺吡啶可以降低抗 CCP 抗体的滴度,而其他包括甲氨蝶

呤在内的 DMARD 却并无这种效果。生物制剂是目前治疗 RA 效果最好的药物,有许多关于 TNF- α 拮抗剂治疗后抗 CCP 抗体变化的研究。Bobbio-Pallavicini 等^[22]总结了近些年在此方面的研究,结果发现抗 CCP 抗体的滴度是否随治疗的进行而变化仍存在争议,而 RF 的滴度是随着病情的改善而降低的。综上所述,关于抗 CCP 抗体的滴度是否会随着药物治疗而降低现在还难以以下结论。不同的研究结果存在很大差异,即使是同一种药物,也可能得到不同的结论。导致这种差异产生的原因可能是各个独立研究的样本偏少,随访时间较短,也可能是由于检测抗 CCP 抗体的试剂盒不同而产生了误差。

5 抗 CCP 抗体与其他自身免疫病

尽管抗 CCP 抗体对 RA 具有较高的特异性,但也有报道称在其他自身免疫病中也发现了抗 CCP 抗体的存在。Vander 等^[23]报道银屑病性关节炎抗 CCP 抗体的阳性率为 7.8%。但这部分抗 CCP 抗体阳性的患者其银屑病的临床表现是典型的,因此鉴别诊断并不困难。此外,在系统性红斑狼疮^[24]、干燥综合征^[25]、系统性硬化症及原发性胆汁性肝硬化^[26]中抗 CCP 抗体均有阳性病例的报道,并且抗 CCP 抗体与这些疾病的关节症状相关。

6 抗 CCP 抗体与 RA 的发病机制

RA 的病因不明,国内外的研究表明,遗传易感性和环境因素可能是 RA 发病的主要原因,下面分别进行阐述。

人类白细胞抗原(human leucocyte antigen,HLA)DR β 链第 70~74 位氨基酸残基的多态性与 RA 的易感性有密切关系,可能是自身抗原结合的位点,这段序列被称为共同表位(shared epitope,SE)。有动物实验证实:当精氨酸转化为瓜氨酸后其与 SE 分子的结合力会大大增加,并进一步激活 CD4⁺ T 细胞的免疫反应^[27]。由这个实验可以推测抗 CCP 抗体的产生可能需要 SE 基因的参与,在这个过程中精氨酸转化为瓜氨酸尤为重要。Klareskog 等^[28]通过对 930 例早期(<1 年)RA 患者进行研究,结果发现:只有 1 个 SE 拷贝的 RA 患者其抗 CCP 抗体阳性率为 65%,而有 2 个 SE 拷贝的 RA 患者其抗 CCP 抗体阳性率为 82%,阳性率明显高于 SE 阴性的患者(34%)。

导致 RA 发病的另一危险因素是环境因素。吸烟是比较明确的 RA 的危险因素之一。Klareskog 等^[28]对长期吸烟的 RA 患者和健康人的肺泡灌洗液进行分析发现,其肺泡液内的细胞中精氨酸转化为瓜氨酸的水平会升高,进而会刺激巨噬细胞聚集,诱导细胞凋亡,而在不吸烟人群中的肺泡灌洗液则无此发现。进一步的分析发现,吸烟并且携带有 SE 基因的人发展成抗 CCP 抗体阳性 RA 的 OR 值是 21,远高于其他组,但是吸烟和 SE 并不增加抗 CCP 抗体阴性 RA 发病的风险。因此,推测吸烟和 SE 之间存在着某种环境基因的交互作用,这种交互作用导致了抗 CCP 抗体的产生,并由此导致 RA 的发病。类似的关于高加索人群的研究^[29-30]也支持了这样的观点。

前已述及,瓜氨酸是抗 CCP 抗体作用的靶抗原,由精氨

酸经 PAD 转化而来。PAD 的激活需要高浓度 Ca^{2+} ($>10^5$ mmol/L) 参与。而这种浓度的 Ca^{2+} 只有在大量细胞凋亡并释放出大量 Ca^{2+} 的情况下才能产生^[31]。根据以上研究的结论,学者们猜测:吸烟或者其他如感染等因素导致了大量细胞的凋亡,进而激活了 PAD,从而产生大量的瓜氨酸,在携带有易感基因的人群体内产生的大量瓜氨酸会与特定亚型的 HLA-DRB1 分子结合,激活 CD4^+ T 细胞,进而通过某种途径诱导并激活 B 细胞,从而产生大量的抗瓜氨酸抗体,瓜氨酸化现象与易感基因的存在可能同时激活了补体等其他免疫系统,并共同参与了 RA 的发病^[14]。

但该假说还存在许多不完善之处,相应的免疫学机制尚未清晰。基于流行病学的调查结果,近些年已经出现了一些探求机制的报道。Feitsma 等^[32]首次证实了在 HLA-DR4 及抗 CCP 抗体阳性的 RA 患者及健康人体内,2 种瓜氨酸肽可激活带有 HLA-DRB1 * 0401 分子的 T 细胞的功能。另有动物实验表明,在佐剂诱发性关节炎小鼠中,使用佐剂处理前即对小鼠注射尼古丁,可使小鼠的抗 CCP 抗体的阳性率升高,且关节炎症状更加严重;但是在使用佐剂处理后对小鼠注射尼古丁则可对关节炎起到保护作用,该研究首次观察到尼古丁对抗 CCP 抗体产生了完全不同的效应,但研究者未能找出产生该现象的机制^[33]。综上所述,目前关于抗 CCP 抗体如何参与 RA 发病机制的研究还比较少,尚不能验证新的发病假说。

以上研究都是基于欧美高加索人群中的流行病学的研究结果而进行的。但是不同种族间相同的疾病其发病机制可能不同。在遗传层面上,基因的多态性在不同种族之间存在差异。SE 的阳性率在不同种族的 RA 患者中不尽相同。高加索人 RA 患者中 SE 阳性率为 70% 左右^[29-30],而非裔美国人 RA 患者中为 42%^[34],在亚裔种族中,韩国人 RA 患者为 67%^[35],中国汉族 RA 患者的阳性率为 40%^[36]。而相对应的,在以上人群中的研究都没有发现 SE 与抗 CCP 抗体的关联存在^[34-36]。尽管这些研究的样本例数较少,统计学强度不是很高,但我们仍可据此推测不同种族之间 RA 的发病机制可能不尽相同。目前关于各个种族的 RA 患者的全基因组扫描工作正在进行中,相信这些研究会找到更多的易感基因位点,为揭示 RA 的发病机制做出贡献。

7 小结与展望

目前对 RA 的治疗主要是一些系统性的抗炎治疗,并不能将其根治,而早期干预治疗能使患者获益最大。因此在症状完全出现前即表现出阳性,并且能预测 RA 的发生发展的抗 CCP 抗体就显得尤为重要。2003 年第二代抗 CCP 抗体的检测方法的出现催生了大量的关于抗瓜氨酸抗体的研究。得益于这些研究成果,抗 CCP 抗体已经广泛应用于临床,帮助医生更早地诊断以及治疗 RA。目前,新的能自动化检测抗 CCP 抗体的方法已经问世,可以在 10 min 内完成抗 CCP 抗体的检测^[37],有助于使抗 CCP 抗体更好地服务于临床。

[参考文献]

[1] Klareskog L, Widhe M, Hermansson M, Ronnelid J. Antibodies

to citrullinated proteins in arthritis; pathology and promise[J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2008, 20: 300-305.

- [2] Suzuki A, Yamada R, Yamamoto K. Citrullination by peptidylarginine deiminase in rheumatoid arthritis[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, 1108: 323-339.
- [3] Vossenaar E R, Radstake T R, van der Heijden A, van Mansum M A, Dieteren C, de Rooij D J, et al. Expression and activity of citrullinating peptidylarginine deiminase enzymes in monocytes and macrophages[J]. *Ann Rheum Dis*, 2004, 63: 373-381.
- [4] Schellekens G A, de Jong B A, van den Hoogen F H, van de Putte L B, van Venrooij W J. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis specific autoantibodies[J]. *J Clin Invest*, 1998, 101: 273-281.
- [5] Schellekens G A, Visser H, de Jong B A, van den Hoogen F H, Hazes J M, Breedveld F C, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide[J]. *Arthritis Rheum*, 2000, 43: 155-163.
- [6] van Gaalen F A, Visser H, Huizinga T W. A comparison of the diagnostic accuracy and prognostic value of the first and second anti-cyclic citrullinated peptides (CCP1 and CCP2) autoantibody tests for rheumatoid arthritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2005, 64: 1510-1512.
- [7] Verpoort K N, Jol-van der Zijde C M, Papendrecht-van der Voort E A, Ioan-Facsinay A, Drijfhout J W, van Tol M J, et al. Isotype distribution of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in undifferentiated arthritis and rheumatoid arthritis reflects an ongoing immune response[J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54: 3799-3808.
- [8] Nishimura K, Sugiyama D, Kogata Y, Tsuji G, Nakazawa T, Kawano S, et al. Meta-analysis; diagnostic accuracy of anticyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis[J]. *Ann Intern Med*, 2007, 146: 797-808.
- [9] Avouac J, Gossec L, Dougados M. Diagnostic and predictive value of anti-cyclic citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis; a systematic literature review[J]. *Ann Rheum Dis*, 2006, 65: 845-851.
- [10] 程鹏, 钟丽民, 沈杰, 李卓伶, 姜婷, 何东仪. 突变型瓜氨酸波形蛋白检测在 RA 中的意义[J]. *中国免疫学杂志*, 2008, 24: 1028-1032.
- [11] Mathsson L, Mullazehi M, Wick M C, Sjöberg O, van Vollenhoven R, Klareskog L, et al. Antibodies against citrullinated vimentin in rheumatoid arthritis; higher sensitivity and extended prognostic value concerning future radiographic progression as compared with antibodies against cyclic citrullinated peptides [J]. *Arthritis Rheum*, 2008, 58: 36-45.
- [12] Arnett F C, Edworthy S M, Bloch D A, McShane D J, Fries J F, Cooper N S, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 1988, 31: 315-324.
- [13] Klareskog L, Widhe M, Hermansson M, Ronnelid J. Antibodies to citrullinated proteins in arthritis; pathology and promise[J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2008, 20: 300-305.
- [14] van Venrooij W J, van Beers J J, Pruijn G J. Anti-CCP antibody, a marker for the early detection of rheumatoid arthritis[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2008, 1143: 268-285.

- [15] Liao K P, Batra K L, Chibnik L, Schur P H, Costenbader K H. Anti-CCP revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2008, 67: 1557-1561.
- [16] Aletaha D, Neogi T, Silman A J, Funovits J, Felson D T,ingham C O 3rd, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria; an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative [J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62: 2569-2581.
- [17] Pinheiro G C, Scheinberg M A, Aparecida da Silva M, Maciel S. Anticyclic citrullinated peptide antibodies in advanced rheumatoid arthritis[J]. *Ann Intern Med*, 2003, 139: 264-265.
- [18] Syversen S W, Goll G L, van der Heijde D, Landewé R, Lie B A, Odegård S, et al. Prediction of radiographic progression in rheumatoid arthritis and the role of antibodies against mutated citrullinated vimentin; results from a ten-year prospective study [J]. *Ann Rheum Dis*, 2010, 69: 345-351.
- [19] Lee D M, Phillips R, Hagan E M, Chibnik L B, Costenbader K H, Schur P H. Quantifying anti-cyclic citrullinated peptide titres; clinical utility and association with tobacco exposure in patients with rheumatoid arthritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2009, 68: 201-208.
- [20] Kastbom A, Strandberg G, Lindroos A, Skogh T. Anti-CCP antibody test predicts the disease course during 3 years in early rheumatoid arthritis (the Swedish TIRA project) [J]. *Ann Rheum Dis*, 2004, 63: 1085-1089.
- [21] Rönnelid J, Wick M C, Lampa J, Lindblad S, Nordmark B, Klareskog L, et al. Longitudinal analysis of citrullinated protein/peptide antibodies (anti-CCP) during 5 year follow up in early rheumatoid arthritis; anti-CCP status predicts worse disease activity and greater radiological progression[J]. *Ann Rheum Dis*, 2005, 64: 1744-1749.
- [22] Bobbio-Pallavicini F, Caporali R, Alpini C, Moratti R, Montecucco C. Predictive value of antibodies to citrullinated peptides and rheumatoid factors in anti-TNF-alpha treated patients[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, 1109: 287-295.
- [23] Vander Cruyssen B, Hoffman I E, Zmierzak H, Van den Berghe M, Kruithof E, De Rycke L, et al. Anti-citrullinated peptide antibodies may occur in patients with psoriatic arthritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2005, 64: 1145-1149.
- [24] Mediawake R, Isenberg D A, Schellekens G A, van Venrooij W J. Use of anti-citrullinated peptide and antiRA33 antibodies in distinguishing erosive arthritis in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2001, 60: 67-68.
- [25] Gottenberg J E, Mignot S, Nicaise-Rolland P, Cohen-Solal J, Aucouturier F, Goetz J, et al. Prevalence of anti-cyclic citrullinated peptide and anti-keratin antibodies in patients with primary Sjögren's syndrome[J]. *Ann Rheum Dis*, 2005, 64: 114-117.
- [26] Santiago M, Baron M, Miyachi K, Fritzler M J, Abu-Hakima M, Leclercq S, et al. A comparison of the frequency of antibodies to cyclic citrullinated peptides using a third generation anti-CCP assay (CCP3) in systemic sclerosis, primary biliary cirrhosis and rheumatoid arthritis[J]. *Clin Rheumatol*, 2008, 27: 77-83.
- [27] Hill J A, Southwood S, Sette A, Jevnikar A M, Bell D A, Cairns E. Cutting edge; the conversion of arginine to citrulline allows for a high affinity peptide interaction with the rheumatoid arthritis associated HLA-DRB1 * 0401 MHC class II molecule [J]. *J Immunol*, 2003, 171: 538-541.
- [28] Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, Källberg H, Bengtsson C, Grunewald J, et al. A new model for an etiology of rheumatoid arthritis smoking may trigger HLA-DR (Shared Epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination[J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54: 38-46.
- [29] Pedersen M, Jacobsen S, Garred P, Madsen H O, Klarlund M, Svejgaard A, et al. Strong combined gene-environment effects in anti-cyclic citrullinated peptide positive rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2007, 56: 1446-1453.
- [30] Morgan A W, Thomson W, Martin S G; Yorkshire Early Arthritis Register Consortium, Carter A M; UK Rheumatoid Arthritis Genetics Consortium, et al. Reevaluation of the interaction between HLA-DRB1 shared epitope alleles, PTPN22, and smoking in determining susceptibility to autoantibody-positive and autoantibody-negative rheumatoid arthritis in a large UK Caucasian population [J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60: 2565-2576.
- [31] Vossenaar E R, Smeets T J, Kraan M C, Raats J M, van Venrooij W J, Tak P P. The presence of citrullinated proteins is not specific for rheumatoid synovial tissue[J]. *Arthritis Rheum*, 2004, 50: 3485-3494.
- [32] Feitsma A L, van der Voort E I, Franken K L, el Bannoudi H, Elferink B G, Drijfhout J W, et al. Identification of citrullinated vimentin peptides as T cell epitopes in HLA-DR4-positive patients with rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62: 117-125.
- [33] Yu H, Yang Y H, Rajaiah R, Moudgil K D. Nicotine-induced differential modulation of autoimmune arthritis in the Lewis rat involves changes in interleukin-17 and anti-cyclic citrullinated peptide antibodies[J]. *Arthritis Rheum*, 2011, 63: 981-991.
- [34] Mikuls T R, Hughes L B, Westfall A O, Holers V M, Parrish L, van der Heijde D, et al. Cigarette smoking, disease severity and autoantibody expression in African Americans with recent-onset rheumatoid arthritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2008, 67: 1529-1534.
- [35] Bang S Y, Lee K H, Cho S K, Lee H S, Lee K W, Bae S C. Smoking increases rheumatoid arthritis susceptibility in individuals carrying the HLA-DRB1 shared epitope, regardless of rheumatoid factor or anti-cyclic citrullinated peptide antibody status[J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62: 369-377.
- [36] Xue Y, Zhang J, Chen Y M, Guan M, Zheng S G, Zou H J. The HLADRB1 shared epitope is not associated with antibodies against cyclic citrullinated peptide in Chinese patients with rheumatoid arthritis[J]. *Scand J Rheumatol*, 2008, 37: 183-187.
- [37] Snijders G F, Broeder A A, Bevers K, Jeurissen M E, van Eerd J E, van den Hoogen F H. Measurement characteristics of a new rapid anti-CCP2 test compared to the anti-CCP2 ELISA [J]. *Scand J Rheumatol*, 2008, 37: 151-154.