



HAL
open science

Étude du déterminisme des pneumopathies interstitielles diffuses associées à la polyarthrite rhumatoïde : facteurs de susceptibilité génétiques et environnementaux

Pierre-Antoine Juge

► To cite this version:

Pierre-Antoine Juge. Étude du déterminisme des pneumopathies interstitielles diffuses associées à la polyarthrite rhumatoïde : facteurs de susceptibilité génétiques et environnementaux. Immunologie. Université Paris Cité, 2020. Français. NNT : 2020UNIP7128 . tel-03249690

HAL Id: tel-03249690

<https://theses.hal.science/tel-03249690>

Submitted on 4 Jun 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.

Université de Paris

École doctorale BioSPC ED562

Laboratoire INSERM UMR 1152

**Étude du déterminisme des pneumopathies
interstitielles diffuses associées à la
polyarthrite rhumatoïde : facteurs de
susceptibilité génétiques et
environnementaux**

Par Pierre-Antoine Juge

Thèse de doctorat de Science en Immunologie

Dirigée par Philippe Dieudé

Présentée et soutenue publiquement le 24/09/2020

Devant un jury composé de :

Pr. Raphaële Seror, PU-PH, Rapporteur
Pr. Arnaud Bourdin, PU-PH, Rapporteur
Pr. Catherine Boileau, PU-PH, Examineur
Pr. Valérie Devauchelle, PU-PH, Examineur
Pr. Arnaud Constantin, PU-PH, Examineur
Pr. Bruno Crestani, PU-PH, Examineur
Pr. Philippe Dieudé, PU-PH, Directeur de thèse



Except where otherwise noted, this work is licensed under
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>

REMERCIEMENTS

Il me faudrait plus de place que ne peut contenir cette page pour remercier l'ensemble des personnes qui m'ont aidé à soutenir cette thèse.

Je voudrais remercier le Pr. Philippe Dieudé de m'avoir accompagné et soutenu tout au long de ce travail. En plus des remarquables publications tirées de cette thèse, ce que j'ai pu acquérir lors de ces 4 années à travailler à ses côtés m'est inestimable. J'espère que ce n'est que le début.

Je remercie le Pr. Seror, le Pr. Boileau, le Pr. Devauchelle, le Pr. Bourdin et le Pr. Constantin qui me font l'honneur de composer jury pendant une année compliquée. Je remercie plus particulièrement le Pr. Crestani pour son soutien et son accueil dans son service à plusieurs reprises.

Je remercie la Société Française de Rhumatologie et la Fondation Arthritis pour leur soutien financier indispensable.

Merci à mes anciens et futurs collègues des services de Rhumatologie et de Pneumologie de l'hôpital Bichat. Je me réjouis de vous retrouver officiellement à partir de Novembre.

Merci à mes amis pour votre présence, votre aide, vos conseils, votre soutien sans lesquels je n'aurais pas pu venir à bout de ce long travail.

Enfin, merci à l'ensemble de ma famille qui continuent à me soutenir malgré la longueur de mes études. Merci à maman, papa et Anne-Sophie sans lesquels rien ne me semblerait possible.

RESUME

La pneumopathie interstitielle diffuse (PID) est une manifestation extra-articulaire sévère de la polyarthrite rhumatoïde (PR) associée à une surmortalité importante. Près de 10% des patients atteints de PR vont développer une forme clinique avec présence de symptômes respiratoires mais la réalisation d'un scanner thoracique de haute définition peut mettre en évidence des anomalies interstitielles chez 30 à 58% des patients. Plusieurs facteurs de risque ont été associés à la PR-PID tels que le sexe masculin, l'âge, le tabagisme ou l'activité de la PR. L'impact des traitements spécifiques de la PR comme le méthotrexate (MTX) ou les anti-TNF α sur la survenue d'une PID reste actuellement débattu.

La PR-PID partage avec la fibrose pulmonaire idiopathique (FPI) plusieurs caractéristiques communes telles que l'aspect de pneumopathie interstitielle commune (PIC), certains facteurs de risque (le sexe masculin, l'âge, le tabagisme...) ainsi qu'une forte morbi-mortalité. Ces points communs laissent suspecter des mécanismes physiopathogéniques ainsi que des facteurs de risques génétiques communs entre PR-PID et FPI.

L'objectif de cette thèse était 1) d'identifier des facteurs de risque génétiques associés à la PR-PID par une approche gène-candidat, 2) d'étudier l'impact d'une exposition par MTX sur la survenue d'une PID au cours de la PR.

Par l'analyse de données du séquençage d'exome de 101 patients atteints de PR-PID et de 1010 témoins, nous avons mis en évidence dans la population PR-PID un excès de mutations au sein de gènes précédemment liés à des formes familiales de fibrose pulmonaires : *TERT*, *RTKL1*, *PARN* et *SFTPC* (OR = 3,17 ; IC_{95%} : 1,53 – 6,12 ; $P = 9,45 \times 10^{-4}$). Dans une deuxième étude génétique d'association cas-témoins internationale incluant 620 patients PR-PID, 614 patients PR sans PID et 5448 témoins, nous avons identifié une forte association entre le facteur de risque génétique principal de la FPI, *MUC5B* rs35705950, et la PR-PID (OR_{aj} = 3,1 ; IC_{95%} : 1,8 – 5,4 ; $P = 7,4 \times 10^{-5}$). Cette association était restreinte au sous-phénotype de PIC.

Dans une troisième étude rétrospective d'association cas-témoins internationale incluant 410 patients PR-PID et 673 patients PR sans PID, nous avons identifié une association inverse entre exposition au MTX et survenue d'une PID au cours de la PR (OR = 0,43 ; IC_{95%} : 0,26 – 0,69 ; $P = 0,0006$). Cette association était observée quel que soit le type de PID (PIC ou autre). Enfin, au sein des patients PR-PID, l'exposition au MTX était associé à un délai de détection de la PID (différence de 3,6 ans après ajustement, $P < 0,001$).

Nos deux premiers travaux ont confirmé l'existence d'une architecture génétique commune à la FPI et la PR-PID, notamment chez les patients présentant une PIC. Ces résultats soutiennent l'évaluation dans la PR-PID des traitements spécifiques à la FPI. Dans notre troisième étude, le MTX n'était pas un facteur de risque de survenue d'une PID au cours de la PR.

En conclusion, La PR-PID est une maladie complexe multifactorielle constituée de multiples facteurs de risques génétiques et environnementaux. Une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans le développement d'une PR-PID permettra une meilleure identification des patients à risque ainsi que l'établissement de stratégies thérapeutiques adaptées.

Mots Clés

Polyarthrite rhumatoïde

Pneumopathie interstitielle diffuse

MUC5B

Télomères

Méthotrexate

Title

Determinism of rheumatoid arthritis associated interstitial lung disease: identification of genetic and environmental risk factors

Keywords

Rheumatoid arthritis

Interstitial lung disease

MUC5B

Telomeres

Methotrexate

ABSTRACT

Interstitial lung disease (ILD) is a severe extra articular manifestation of rheumatoid arthritis (RA) associated with an increased mortality rate. A symptomatic clinical ILD is observed in about 10% of patients with RA but interstitial lung abnormalities can be observed in 30 to 58% of patients with RA using a systematic assessment by high resolution CT scan. Several RA-ILD risk factors have been identified (male sex, age, smoking history, RA disease activity...) but the impact of RA specific treatments such as methotrexate (MTX) or TNF inhibitors is still under discussion.

RA-ILD and idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) share several similarities: the usual interstitial pneumonia (UIP) pattern, some risk factors (male sex, age, smoking history) and a high morbimortality. These common characteristics suggest shared pathophysiological mechanisms and shared genetic risk factors.

The objectives of this thesis were 1) to identify RA-ILD associated genetic risk factors using a candidate gene approach, 2) to study the impact of MTX exposure on ILD occurrence in patients with RA.

Using exome sequencing data from 101 patients with RA-ILD and 1010 controls, we detected in the RA-ILD population an excess of mutations in genes previously linked to familial pulmonary fibrosis: *TERT*, *RTEL1*, *PARN* and *SFTPC* (OR = 3.17 ; 95%CI: 1.53 – 6.12; $P = 9.45 \times 10^{-4}$). In a second genetic case-control association study including 620 patients with RA-ILD, 614 patients with RA without ILD and 5448 controls, we identified a strong association between RA-ILD and IPF major genetic risk factor, *MUC5B* rs35705950 (OR_{adj} = 3.1 ; 95%CI: 1.8 – 5.4; $P = 7.4 \times 10^{-5}$). This association was restricted to the patients with a UIP pattern.

In an international retrospective case-control association study including 410 patients with RA-ILD and 673 patients with RA without ILD, we identified an inverse association between MTX exposition and ILD occurrence in RA (OR = 0.43; 95%CI: 0.26 – 0.69; $P = 0.0006$). This association was detected whatever the ILD pattern (UIP or non-UIP). In patients with RA-ILD, MTX exposure was associated with a delay in ILD detection (3,6 years after adjustment, $P < 0.001$).

Our two first studies confirmed a shared genetic background between IPF and RA-ILD, particularly in patients with a UIP pattern. These results support the evaluation of IPF specific treatments in RA-ILD. In our third study, MTX was not a risk factor for ILD occurrence in patients with RA.

In conclusion, RA-ILD is a multifactorial complex disease composed by multiple genetic and environmental risk factors. A better understanding of the mechanisms involved in RA-ILD development will improve identification of patients at risk to develop RA-ILD and will help to build specific therapeutic strategies.

ABREVIATIONS FREQUEMMENT UTILISEES DANS LE DOCUMENT

ABCA3 : ATP-binding cassette famille A, membre 3

ACPA : anticorps anti-peptides citrullinés

BALT : bronchial associated lymphoid tissue

CVF : capacité vitale fonctionnelle

DAS-28 : disease activity score 28

DIP : pneumopathie interstitielle desquamative

DLCO : capacité de diffusion du monoxyde de carbone

EFR : épreuves fonctionnelles respiratoires

FPF : fibrose pulmonaire familiale

FPI : fibrose pulmonaire idiopathique

FR : facteur rhumatoïde

GWAS : étude d'association pangénomique

Ig : immunoglobuline

LBA : lavage broncho-alvéolaire

MAF : fréquence de l'allèle rare

MTX : méthotrexate

MUC5B : mucine 5B

OR : odd ratio

PAD : peptidylarginine déiminase

PARN : poly(A) RNase

PIC : pneumopathie interstitielle commune

PID : pneumopathie interstitielle diffuse

PINS : pneumopathie interstitielle non spécifique

PO : pneumopathie organisée

PR : polyarthrite rhumatoïde

PR-PID : pneumopathie interstitielle diffuse associée à la polyarthrite rhumatoïde

RTEL1 : regulator of telomeres elongation helicase 1

RTX : rituximab

SE : shared epitope

SNP : single nucleotide polymorphism

SP-A à *D* : protéine du surfactant A à D

TERC : RNA subunit of telomerase

TERT : telomerase reverse transcriptase

TDM-HR : tomodensitométrie à haute résolution

TINF2 : TERF1-interacting nuclear factor 2

Table des matières

1. INTRODUCTION	133
1.1. Déterminisme de la polyarthrite rhumatoïde.....	133
1.2. Pneumopathies interstitielles diffuses associées à la PR.....	135
1.2.1. <u>Épidémiologie</u>	135
1.2.2. <u>Les principales pneumopathies interstitielles associées à la PR</u>	136
1.2.2.1. <i>Aspects histologiques</i>	137
1.2.2.2. <i>Aspects scannographiques</i>	138
1.2.3. <u>Facteurs de risque de PID au cours de la PR</u>	141
1.2.3.1. <i>Patient à risque</i>	142
1.2.3.2. <i>Phénotype à risque de la polyarthrite rhumatoïde</i>	142
1.2.3.3. <i>Rôle des traitements spécifiques de la polyarthrite rhumatoïde</i>	143
1.2.4. <u>Évolution et Pronostic</u>	144
1.2.5. <u>Prise en charge thérapeutique</u>	145
1.2.5.1. <i>Méthotrexate</i>	146
1.2.5.2. <i>Biothérapies</i>	146
1.3. Physiopathologie de la PR-PID : 2 hypothèses non exclusives	147
1.3.1. <u>Le poumon : site d'initiation de l'auto-immunité spécifique de la PR ?</u>	148
1.3.1.1. <i>La plupart des facteurs de risque environnementaux de la PR sont inhalés</i>	148
1.3.1.2. <i>Production locale d'ACPA précédant le diagnostic de PR</i>	148
1.3.2. <u>L'auto-immunité de la PR à l'origine d'une atteinte pulmonaire interstitielle ?</u>	150
1.4. Arguments en faveur de processus physiopathogéniques communs entre la PR-PID et la FPI	152
1.4.1. <u>Caractéristiques phénotypiques communes entre la PR-PID et la FPI</u>	152
1.4.2. <u>Auto-immunité partagée</u>	153
1.4.3. <u>Locus HLA, PR-PID et FPI</u>	153
1.5. Principale hypothèse de travail : des voies physiopathogéniques communes suggèrent l'existence d'un fond génétique partagé entre PR-PID et FPI	154
1.5.1. <u>Génétique de la PR-PID</u>	154
1.5.2. <u>Génétique de la FPI</u>	156
1.5.2.1. <i>Mutations dans les gènes impliqués dans le complexe télomérase</i>	157
1.5.2.2. <i>Mutations dans les gènes impliqués dans le surfactant</i>	159
1.5.2.3. <i>Le variant rs35705950 du promoteur de MUC5B</i>	160

2.	OBJECTIFS	161
3.	STRATEGIES D'ETUDES	161
4.	PRINCIPAUX RESULTATS ACQUIS	162
4.1.	Mise en évidence chez des patients PR-PID d'un excès de mutations au sein des gènes liés à la Fibrose Pulmonaire Familiale	162
4.1.1.	<u>Rappel méthodologique</u>	162
4.1.1.1.	<i>Patients et témoins</i>	162
4.1.1.2.	<i>Analyse des données de séquençage d'exome</i>	162
4.1.1.3.	<i>Burden Test</i>	163
4.1.1.4.	<i>Analyses d'association génotype-phénotype</i>	164
4.1.2.	<u>Principaux résultats</u>	164
4.2.	Association entre <i>MUC5B</i> rs35705950 et la PR-PID	168
4.2.1.	<u>Rappel méthodologique</u>	168
4.2.1.1.	<i>Patients et témoins</i>	168
4.2.1.2.	<i>Génotypage de MUC5B rs35705950</i>	168
4.2.1.3.	<i>Analyse statistique</i>	169
4.2.2.	<u>Principaux résultats</u>	169
4.3.	Méthotrexate et risque de survenue d'une PID dans la PR.....	173
4.3.1.	<u>Rappel méthodologique</u>	173
4.3.1.1.	<i>Patients</i>	173
4.3.1.2.	<i>Recueil des données</i>	173
4.3.1.3.	<i>Analyses statistiques</i>	174
4.3.2.	<u>Principaux résultats</u>	174
5.	DISCUSSION	177
5.1.	Identification d'un excès de mutations au sein de gènes liés à des formes familiales de fibrose pulmonaire dans une population de patients PR-PID : discussion des résultats et limites de l'étude	177
5.1.1.	<u>Discussion</u>	177
5.1.1.1.	<i>PR-PID et anomalies de télomères</i>	177
5.1.1.2.	<i>PR-PID et mutation de SFTPC</i>	178
5.1.2.	<u>Limites de l'étude</u>	180
5.2.	Identification d'une association entre <i>MUC5B</i> rs35705950 et la PR-PID : discussion des résultats et limites de l'étude.....	181
5.2.1.	<u>Discussion des résultats</u>	181
5.2.1.1.	<i>Association entre MUC5B rs35705950 et PR-PID</i>	181

5.2.1.2.	<i>Association MUC5B rs35705950 et phénotype PIC de la PR-PID</i>	181
5.2.1.3.	<i>Exploration d'une expression de Muc5b au sein de la membrane synoviale</i>	182
5.2.1.4.	<i>PR-PID et autres variants associés à la FPI</i>	183
5.2.2.	<u>Limites de l'étude</u>	184
5.3.	Influence du méthotrexate sur la survenue d'une PID au cours de la PR : discussion des résultats et limites de l'étude	185
5.3.1.	<u>Discussion des résultats</u>	185
5.3.1.1.	<i>Identification d'une association inverse entre l'absence d'exposition au MTX et survenue d'une PR-PID</i>	185
5.3.1.2.	<i>MTX, risque de PR-PID et MUC5B rs35705950</i>	186
5.3.2.	<u>Limites de l'étude</u>	187
5.4.	Impact thérapeutique	188
5.4.1.	<u>Utilisation des médicaments spécifiques de la FPI dans la PR-PID</u>	188
5.4.2.	<u>MTX et risque de PR-PID</u>	189
6.	CONCLUSION	190
7.	PERSPECTIVES	192
7.1.	Mieux définir l'architecture génétique de la PR-PID	192
7.1.1.	<u>Comparaison des données de séquençage d'exome d'une population PR-PID et PR-non PID</u>	192
7.1.2.	<u>Réalisation d'un GWAS comparant PR-PID et PR-non PID</u>	192
7.1.3.	<u>Étude de la taille des télomères</u>	192
7.1.4.	<u>Étude de familles d'intérêt</u>	193
7.2.	MUC5B rs35705950 comme facteur pronostique et marqueur diagnostique	193
7.2.1.	<u>Analyse de la survie en fonction de MUC5B rs35705950</u>	193
7.2.2.	<u>L'intérêt du génotypage de MUC5B rs35705950 comme marqueur prédictif de survenue de PID au cours de la PR</u>	194
7.3.	Meilleure compréhension du mécanisme expliquant l'impact fonctionnel de MUC5B rs35705950	144
8.	REFERENCES	196
9.	ANNEXE 1. Editorial, "A recurring theme in pulmonary fibrosis genetics", Paul J. Wolters, European Respiratory Journal, 2017	157
10.	ANNEXE 2. Editorial, "Breathing new life into Interstitial Lung Disease in Rheumatoid Arthritis", Gregersen et al, New England Journal of Medicine, 2018	160

1. INTRODUCTION

1.1. Déterminisme de la polyarthrite rhumatoïde

La Polyarthrite Rhumatoïde (PR) est une maladie auto-immune complexe ou multifactorielle dont le déterminisme résulte de l'interaction de facteurs de risques génétiques et environnementaux dont la plupart sont inhalés (le tabac, la silice) (Figure 1a).

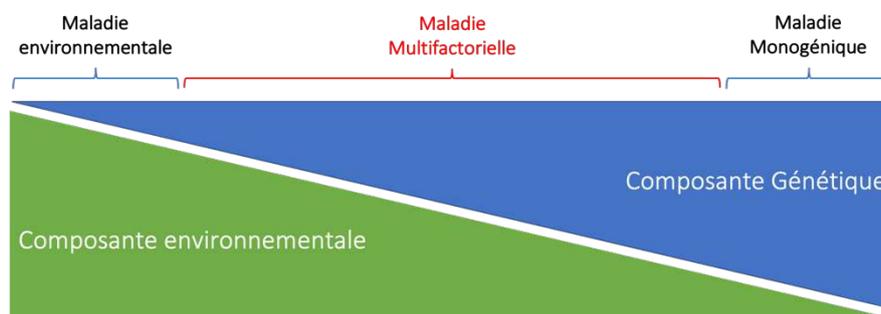


Figure 1a. Représentation de la composante environnementale et génétique des maladies environnementales, multifactorielles et monogéniques

On qualifie de maladies génétiques complexes, les maladies qui possèdent un déterminisme manifestement génétique mais dont la transmission ne correspond à aucun des modes mendéliens classiques de transmission (*i.e.* récessif, dominant), ni à un mode de transmission de type mitochondrial.

La composante génétique des maladies complexes résulte *i)* de l'addition de l'effet de plusieurs variants génétiques communs, chacun conférant séparément un risque faible de développer le phénotype maladie et *ii)* de la contribution de mutations ayant un effet fort (Figure 1b).

Les mutations à effet fort sont habituellement identifiées par des études de liaison génétique par des études de familles au sein desquelles ségrège le phénotype PR selon un mode de transmission mendélien, avec ou sans une approche gènes-candidats, généralement

aidée par des techniques de séquençage nouvelle génération. Les mutations sont définies par une fréquence de l'allèle rare ou minor allele frequency (MAF) inférieure à 0.001 dans la population générale.

Les variants communs ($MAF \geq 0.05$) sont soit détectés par des études d'association génétique cas-témoins pangénomiques (Genome Wide Association Studies – GWAS). Ces études testent un grand nombre de polymorphismes bialléliques fréquents ou single nucleotide polymorphism (SNPs) et nécessitent un grand nombre de cas et de témoins afin d'obtenir une puissance suffisante pour identifier des variants à risque ayant une faible magnitude d'association. Dans la revue de Manolio *et al.*, les auteurs décrivent également des variants dit de faible fréquence ayant une MAF comprise entre 0.001 et 0.05, responsables d'un risque « intermédiaire » (Figure 1b) (1).

Figure 1b. Composante génétique des maladies complexes (d'après (1))

Des facteurs de risque environnementaux contribuent également au déterminisme des maladies multifactorielles telle que la PR. Ainsi, le tabac est aujourd'hui un facteur de risque bien identifié de la PR positive pour les anticorps anti-peptides citrullinés (ACPA) (2). On notera, qu'il existe une interaction gène – environnement comme illustré ci-dessous entre tabac et certains allèles à risque *HLA-DRB1* et le risque de PR ACPA+ (3) (Figure 2). La silice minérale inhalée a également été identifiée comme facteur de risque de la PR ACPA+ (L'identification de tels facteurs est difficile car ils sont généralement associés à un faible risque

(association de faible magnitude) et les biais induits par les études épidémiologiques sont nombreux.

**Figure 2. Exemple d'interaction gènes / environnement dans le déterminisme de la PR ACPA+
(d'après (3))**

1.2. Pneumopathies interstitielles diffuses associées à la PR

La PR est une maladie systémique caractérisée par une inflammation chronique de la synoviale (synovite rhumatoïde) conduisant à une destruction ostéo-articulaire (4). Le caractère systémique de la PR s'illustre par de nombreuses manifestations extra-articulaires dont les pneumopathies interstitielles diffuses (PID) ou PR-PID. La PR-PID est une manifestation extra-articulaire fréquente de la PR, responsable d'une importante morbi-mortalité, constituant aujourd'hui la deuxième cause de mortalité après les accidents cardio-vasculaires (5, 6). Aujourd'hui, la physiopathologie de la PR-PID reste méconnue et l'identification des patients PR à risque de développer cette manifestation constitue un enjeu de taille. La thématique de la recherche que nous avons conduite a pour but d'identifier des facteurs de risques, génétiques et environnementaux de PR-PID, partant du postulat que le déterminisme du phénotype PR-PID est complexe ou multifactoriel.

1.2.1. Épidémiologie

La prévalence de la PR-PID, est difficile à évaluer et varie selon les études en fonction des méthodes diagnostiques utilisées et de la définition retenue (clinique ou pré-clinique). Elle

a longtemps été sous-évaluée car i) longtemps asymptomatique et ii) du fait de l'absence d'outil de détection performant tel que la radiographie thoracique standard dont la sensibilité est médiocre pour la détection d'une PID limitée ou débutante (7). Ainsi, la prévalence de la forme clinique est estimée à moins de 10% des patients atteints de PR, alors que l'utilisation croissante du scanner thoracique à haute résolution (TDM-HR) a réévalué à la hausse la prévalence de la PID pré-clinique chez les patients atteints de PR fluctuant de 30 à 58% (7-10).

Concernant les données d'incidence, Koduri *et al.* ont rapporté une incidence annuelle de la PR-PID symptomatique de 4,1/1000 (IC_{95%} : 3,0 – 5,4) et une incidence cumulée à 15 ans de 62,9/1000 (IC_{95%} : 43,0 – 91,7) (11). A la différence des autres manifestations extra-articulaires de la PR dont l'incidence semble diminuer, probablement du fait d'une meilleure prise en charge globale, l'incidence de la PR-PID semble stable voire en augmentation (5, 12, 13). Cette augmentation est possiblement l'illustration de l'usage d'outils de détections plus sensibles tels que la TDM-HR. Une potentielle iatrogénicité des nouvelles thérapeutiques utilisées dans la PR peut également être suspectée et fait encore l'objet d'un débat (14).

1.2.2. Les principales pneumopathies interstitielles associées à la PR

Les PR-PID constituent une entité hétérogène comprenant différents aspects histologiques et scannographiques correspondant à différents mécanismes physiopathologiques distincts. Il est important de pouvoir classer les PID car l'aspect scannographique détermine le pronostic et pourrait également conditionner la prise en charge thérapeutique.

1.2.2.1. Aspects histologiques

L'aspect de pneumopathie interstitielle commune (PIC) et celui de pneumopathie interstitielle non spécifique (PINS) sont les plus fréquemment observés au cours de la PR. Le diagnostic définitif repose sur l'analyse histologique du parenchyme pulmonaire, bien que rarement réalisé. La PIC est caractérisée par des zones fibreuses détruisant la structure pulmonaire aboutissant à un aspect de rayon de miel histologique. Il existe des foyers fibroblastiques au sein desquels s'accumulent fibroblastes et myofibroblastes entourés d'une matrice extracellulaire jeune, peu inflammatoire composée de dépôts de collagène. Les lésions sont hétérogènes reflétant l'hétérogénéité d'apparition de ces lésions dans le temps, ce qui est caractéristique de la PIC (tableau 1) (15).

La PINS est caractérisée par des lésions relativement homogènes, nettement inflammatoires, avec un degré variable de fibrose. On distingue la PINS cellulaire avec infiltrat lymphoplasmocytaire et la PINS fibrosante comportant des zones de fibroses (tableau 2). Des lésions de PIC et de PINS peuvent coexister chez un même patient. Enfin, d'autres aspects, beaucoup plus rares, peuvent être observés tels que la pneumopathie organisée, la pneumopathie lymphoïde interstitielle ou encore la pneumopathie interstitielle desquamative (15).

Caractéristiques histologiques de la pneumopathie interstitielle commune	
<u>Critères positifs</u>	<u>Critères négatifs</u>
- Fibrose dense avec révision architecturale	- Absence d'autre pneumopathie interstitielle
- Images en rayons de miel	- Absence d'inflammation chronique
- Foyers fibroblastiques	- Granulomes rares ou absents
- Distribution hétérogène des lésions	- Dépôts inorganiques absents
	- Polynucléaires éosinophiles rares ou absents

Tableau 1. Récapitulatif des caractéristiques histologiques de la pneumopathie interstitielle commune (d'après (15))

Caractéristiques histologiques de la pneumopathie interstitielle non spécifique	
Forme Cellulaire	
<u>Critères positifs</u>	<u>Critères négatifs</u>
<ul style="list-style-type: none"> - Inflammation chronique interstitielle modérée - Bronchiolisation dans les secteurs inflammatoires 	<ul style="list-style-type: none"> - Absence de fibrose interstitielle dense - Absence de membranes hyalines - Polynucléaires éosinophiles rares ou absents - Absence d'inclusion virale ou d'agents infectieux
Forme Fibrosante	
<u>Critères positifs</u>	<u>Critères négatifs</u>
<ul style="list-style-type: none"> - Fibrose interstitielle uniforme, de même âge - Architecture pulmonaire modifiée - Inflammation chronique interstitielle modérée 	<ul style="list-style-type: none"> - Foyers fibroblastiques rares ou absents - Absence de rayon de miel

Tableau 2. Récapitulatif des caractéristiques histologiques de la pneumopathie interstitielle non spécifique (d'après (15))

1.2.2.2. Aspects scannographiques

Si la biopsie du parenchyme pulmonaire peut fournir des informations intéressantes, elle n'est pas systématique car il est actuellement admis que l'aspect des lésions scannographiques permet une bonne classification des lésions de PID (16). La TDM-HR constitue l'examen de référence pour le diagnostic et la classification des PID. Les caractéristiques des aspects scannographiques de PIC et PINS sont résumées dans le tableau 3 et dans les Figures 3 et 4.

PIC	PINS
- Aspect de rayon de miel prédominant	- Importantes hyperdensités en verre dépoli

- Bronchectasies par traction	- Réticulations intra et inter-lobulaires
- Opacités réticulées	- Bronchectasies par traction
- Prédominance sous pleurale des lésions	- Distribution symétrique
- Atteinte prédominante aux bases	- Prédominance sous pleurale des lésions
- Pas ou peu d'aspect de verre dépoli	- Atteinte prédominante aux bases
	- Absence de rayon de miel

Tableau 3. Caractéristiques scannographiques de la pneumopathie idiopathique commune (PIC) et de la pneumopathie interstitielle non spécifique (PINS)

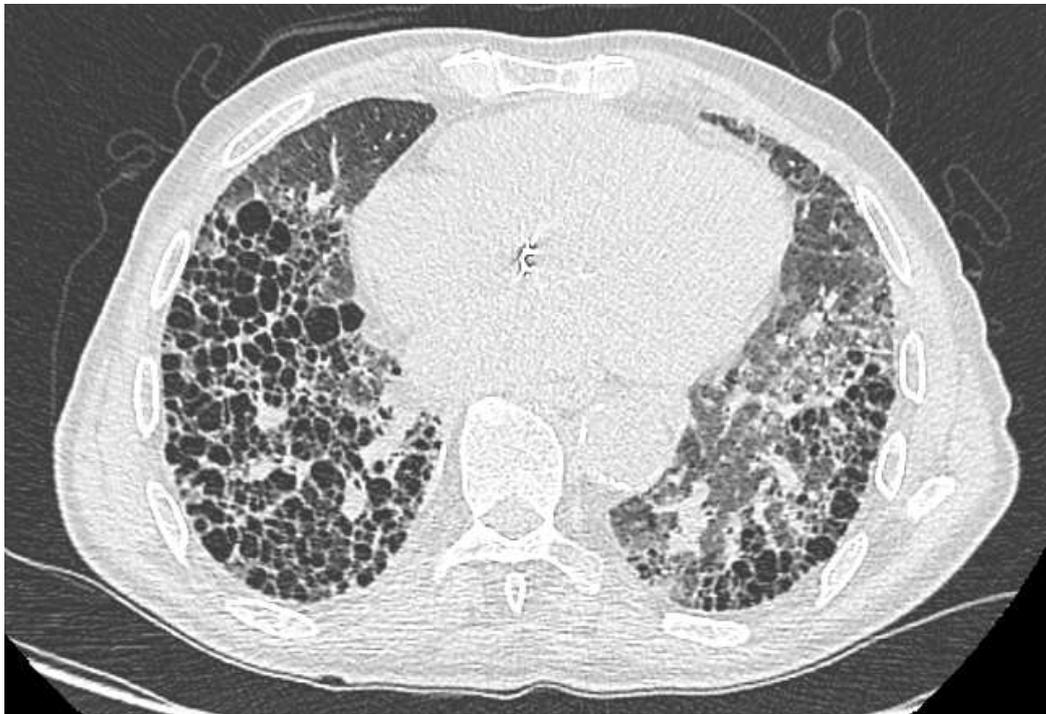


Figure 3. Image scannographique typique d'une pneumopathie interstitielle commune

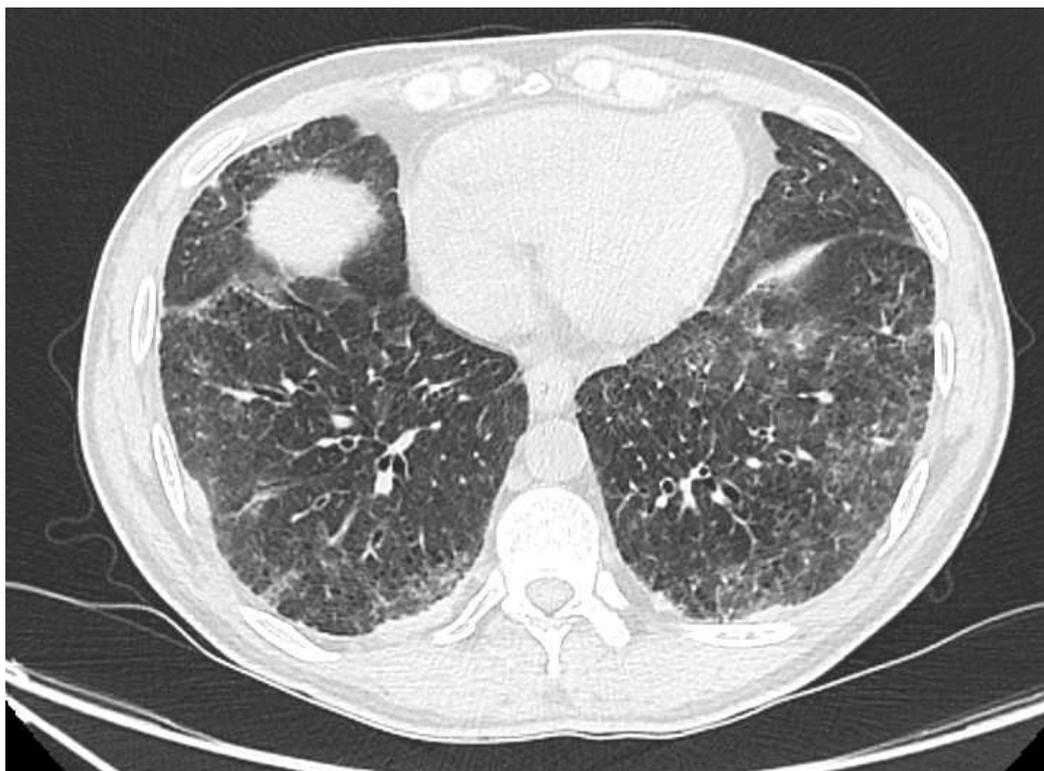


Figure 4. Image scannographique typique d'une pneumopathie interstitielle non spécifique

Contrairement aux atteintes pulmonaires interstitielles associées aux autres connectivites, telles que la sclérodermie systémique ou les dermatomyosites, où l'aspect le plus fréquemment observé est celui de PINS, la répartition des aspects dans la PR-PID est hétérogène. Ainsi, l'aspect de PIC est le plus fréquent, suivi de l'aspect de PINS (Figure 5). Les études rapportent un aspect de PIC dans 40 à 62% des cas et de PINS dans 11 à 32% des cas (6, 17, 18).

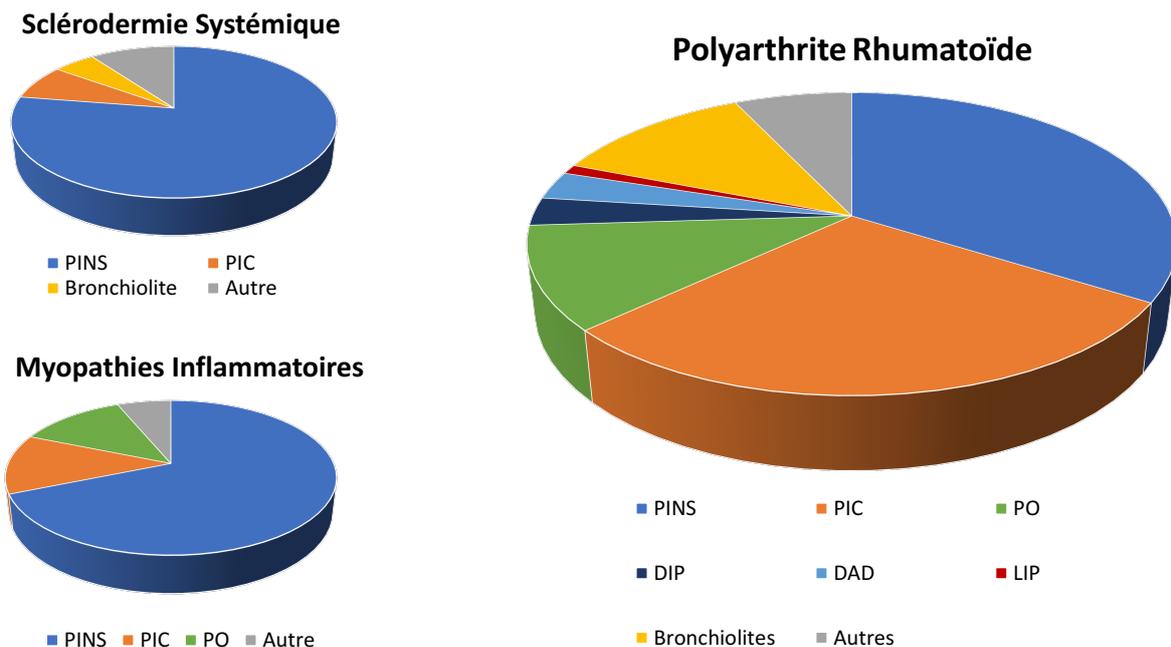


Figure 5. Principaux aspects de pneumopathies interstitielles diffuses observés au cours de 3 différentes connectivites (d'après (17, 19-21))

(PINS = Pneumopathie Interstitielle Non Spécifique ; PIC = Pneumopathie Interstitielle Commune ; PO = Pneumopathie organisée ; DIP = Pneumopathie Interstitielle Desquamative ; LIP = Pneumopathie Lymphoïde Interstitielle ; DAD = Atteinte Alvéolaire Diffuse)

La classification radiologique des PID à l'aide de la TDM-HR n'est pas toujours facile. La concordance entre les lectures de deux examinateurs expérimentés est faible (22). Comme pour l'analyse histologique, plusieurs aspects peuvent coexister chez un même patient. De plus, l'atteinte interstitielle évolue et peut se modifier au cours du temps et du contexte clinique (exacerbation de PID, apparition d'une pneumopathie organisée associée...). L'analyse de l'ensemble des TDM-HR réalisées chez un patient est nécessaire afin de classer au mieux la PID.

1.2.3. Facteurs de risque de PID au cours de la PR

Plusieurs facteurs de risque de survenue d'une PR-PID ont été identifiés de façon plus ou moins robuste dans la littérature. Schématiquement, on peut considérer 4 groupes de

facteurs de risque : ceux propres au patient, ceux liés au phénotype de la PR, ceux possiblement secondaires aux traitements spécifiques de la PR et, enfin, la durée d'évolution de la maladie rhumatismale (11). Ainsi, la PR-PID est classiquement détectée dans la 5^{ème} ou la 6^{ème} décennie (5, 6, 23, 24). Les principaux facteurs de risques sont résumés dans le tableau 4.

1.2.3.1. Patient à risque

Parmi les caractéristiques liées au patient, le sexe masculin, un âge tardif au diagnostic initial de PR ainsi qu'un antécédent de tabagisme sont associés à un sur-risque de développer une PR-PID (5, 6, 23). La proportion d'homme observée dans les populations PR-PID est plus importante que celle rapportée dans une population classique de patients atteints de PR (40 à 50% contre 20%, respectivement) (5, 6). Concernant le tabagisme, le risque de PR-PID semble dépendre de l'intensité de l'exposition avec un sur-risque observé après 25 paquets-années (24).

1.2.3.2. Phénotype à risque de la polyarthrite rhumatoïde

Si les études sont contradictoires, une association a été rapportée entre la positivité pour les ACPA et le facteur rhumatoïde (FR) et la PR-PID (25-27). Certaines études ont également montré qu'un taux plus élevé d'ACPA était observé chez les patients atteints de PR-PID (28-30). Enfin, la relation entre ACPA et PR-PID pourrait être restreinte à certains sous-type d'ACPA comme les anticorps ciblant l' α -énolase citrullinée (31). L'activité de la PR semble également influencer la survenue d'une PID. Une récente étude a montré que pour chaque unité du Disease Activity Score 28 (DAS-28), le risque de développer une PR-PID était augmenté de 35% (28, 32-34).

1.2.3.3. Rôle des traitements spécifiques de la polyarthrite rhumatoïde

Du fait de l'absence d'études prospectives, l'état actuel des données de la littérature ne permet pas conclure quant à l'effet bénéfique ou délétère des traitements utilisés dans la PR sur le risque de survenue d'une PID.

Le méthotrexate (MTX) connu comme pourvoyeur de rares cas de pneumopathies aiguës d'hypersensibilité (35), est aujourd'hui habituellement suspecté comme facteur de risque de PID sans toutefois d'argument solide permettant d'établir formellement un lien de causalité avec le risque de survenue d'une PID au cours de la PR.

Ainsi, trois méta-analyses récentes incluant des essais randomisés contrôlés de patients PR et non-PR traités par MTX ne mettait pas en évidence de sur-risque d'évènement indésirables pulmonaires non infectieux chez les patients traités par MTX (36-38). De plus, dans une étude récente de deux cohortes anglaises de patients présentant une PR précoce, l'exposition au MTX n'était pas associée à un sur-risque de PR-PID (39). Dans cette étude, le MTX semblait même retarder la survenue de la PID (39). D'autres études rétrospectives suggèrent également un effet bénéfique du MTX (40, 41). Cependant, ces études comprennent différents biais potentiels : *i*) le statut PID n'était pas systématiquement vérifié par TDM-HR notamment chez les témoins PR-non PID pouvant entraîner un biais de classification, *ii*) certaines études se basant sur des données déclaratives de registre ou des données de codage ont pu sous-estimer l'incidence de la PID, *iii*) le design de certaines études a pu prendre en compte l'exposition au MTX après le diagnostic de PID entraînant un biais de prescription chez les patients PR-PID et *iv*) l'année de diagnostic de la PR et les recommandations concernant la place du MTX dans sa prise en charge pendant cette période n'ont pas été prises en compte.

Les biothérapies anti-TNF α ont été suspectées comme possible facteur de risque de survenue et d'aggravation des PID (42, 43). Cependant, ces résultats font l'objet d'une controverse car pas toujours répliqués (44-46) et doivent être considérés avec prudence du fait de nombreux biais (cas cliniques isolés, séries limitées de cas, études monocentriques rétrospectives). Le rituximab (RTX) a été rapporté comme pourvoyeur de pneumopathie organisée. On notera que celles-ci ont été décrites exclusivement au cours de traitement de lymphomes et semblent survenir dans un délai moyen de 3 mois après la 4^{ème} cure (47, 48).

Facteurs de risque – Haut niveau de preuve	Facteurs de risque – Faible niveau de preuve
<p>Âge Âge tardif au diagnostic de PR Sexe masculin Tabagisme Durée d'évolution de la PR</p>	<p>Activité de la maladie Positivité pour les ACPA Taux d'ACPA Traitements de la PR (MTX, anti-TNF) ?</p>

Tableau 4. Principaux facteurs de risque de survenue d'une PR-PID.

1.2.4. Évolution et Pronostic

La PID est généralement diagnostiquée plusieurs années après le diagnostic de PR mais elle peut précéder les signes articulaires chez 10 à 20% des patients (49). La durée médiane entre le diagnostic de PR et celui de PID est d'environ 5 ans (11, 50, 51). Cependant, des lésions histologiques et scannographiques peuvent être présentes en l'absence de signes fonctionnels pulmonaires. Ainsi, seuls 10% des patients présentant des anomalies scannographiques sont symptomatiques (23, 52). Le profil évolutif de ces anomalies scannographiques n'est pas clairement établi mais une progression scannographique ou des épreuves fonctionnelles

respiratoires (EFRs) de la PID est observée chez près de la moitié des patients atteints de PR (50, 53).

La PID est une complication sévère de la PR. Elle constitue la deuxième cause de mortalité au cours de la PR et est responsable de 6,8 à 9,8% des décès chez les patients PR (5, 6, 52). La médiane de survie après le diagnostic de PID clinique varie selon les études entre 2,1 et 10 ans (23, 50, 54, 55).

Plusieurs facteurs de risque de mortalité de la PR-PID ont été identifiés tels que l'âge élevé, le sexe masculin, un antécédent de tabagisme, l'aspect de PIC, l'étendu de la fibrose sur la TDM-HR, et une perturbation des EFR (54, 56). Parmi les paramètres des EFR, les études montrent qu'une baisse de la capacité de diffusion du monoxyde de carbone (DLCO) et de la capacité vitale forcée (CVF) (notamment une diminution de la CVF d'au moins 10% par rapport à la normale) est prédictrice de mortalité (54, 56).

L'aspect de PIC semble constituer un facteur particulièrement péjoratif. Un sur-risque de mortalité a été identifié au cours de la PIC comparé à la PINS par plusieurs études (25, 50, 54, 57-59) (Figure 6). Les études ont estimé que la mortalité était multipliée par 3,6 - 3,9 chez les patients présentant une PIC par rapport à une PINS (25, 54).

Figure 6. Courbe de survie de Kaplan-Meier dans une population de patients PR-PID en fonction du type de PID (d'après (54)). (NSIP = PINS, UIP = PIC)

1.2.5. Prise en charge thérapeutique

Agents immunosuppresseurs

Traditionnellement, un traitement par corticoïdes est utilisé avec une efficacité variable. En effet, si certains types de PID pourraient être cortico-sensibles (PINS, pneumopathie organisée) l'aspect de PIC, plus fibrosant et peu inflammatoire, semble peu accessible à la

corticothérapie (16). D'autres agents immunosuppresseurs tels que l'azathioprine ou le cyclophosphamide ont été utilisés souvent par extrapolation du traitement d'autres PID (60, 61). Cependant, l'efficacité de ces traitements reste incertaine, du fait de l'absence d'étude contrôlée dédiée.

1.2.5.1. Méthotrexate

L'impact du MTX, pierre angulaire du traitement de la PR, sur le pronostic de la PR-PID n'est pas certain. Pourvoyeur de pneumopathie aigüe d'hypersensibilité, le MTX n'a cependant pas été clairement associé à l'exacerbation ou à la progression d'une PID au cours de la PR. Un traitement par MTX ne semble pas modifier l'évolution des EFR ou du TDM-HR chez les patients PR-PID (62, 63). Les EFR de patients PR (avec ou sans PID) après deux ans de traitement par MTX ne sont pas différents de ceux non traités par MTX (64). L'analyse de 293 patients PR explorés par TDM-HR ne mettait pas en évidence d'association entre le MTX et la présence ou la progression d'une PR-PID (65). Dans une étude rétrospective multicentrique, incluant 78 patients atteints de PR-PID, la survie à 80 mois était meilleure dans le groupe traité par MTX (HR 0.13, 95% CI 0.02–0.64, P = 0,0005) (41). Des données prospectives contrôlées sont donc nécessaires afin de déterminer son effet sur l'évolution d'une PR-PID.

1.2.5.2. Biothérapies

Compte tenu du potentiel risque de survenue ou d'aggravation d'une PID au cours de la PR rapporté par plusieurs études rétrospectives, il est d'usage que les anti-TNF α ne soient pas utilisés dans le traitement de la PR-PID (42, 43, 66).

Le RTX pourrait être un traitement efficace dans la PR-PID. Une étude observationnelle monocentrique anglaise observait une stabilisation ou une amélioration des EFR chez 68,2% des patients avec une mauvaise réponse observée chez les patients en cas de PIC (67). Une étude rétrospective semblait observer une mortalité moins importante chez les patients traités par RTX (HR = 0,49 ; IC_{95%} : 0,23 – 1,06 ; P=NS) (68). Enfin, des signaux positifs ont été rapportés concernant l'utilisation de l'abatacept en cas de PR-PID (69).

Devant l'absence d'essai randomisé contrôlé et l'hétérogénéité des données de la littérature, il n'existe pas d'argument pour privilégier un traitement particulier en cas de PR-PID. Aussi, aucune recommandation internationale sur la prise en charge de la PR-PID, émanant des sociétés savantes telle que l'EULAR ou l'ACR, n'est actuellement disponible. Toutefois, des recommandations ont été publiées en Espagne et au Royaume-Uni suggérant l'utilisation de l'abatacept ou du rituximab et conseillant l'éviction des anti-TNF α (70, 71).

1.3. Physiopathologie de la PR-PID : 2 hypothèses non exclusives

Plusieurs hypothèses concernant la physiopathologie de la PR-PID peuvent être envisagées : 1) le poumon pourrait être le site d'initiation de l'auto-immunité dirigée contre les peptides citrullinés, spécifique de la PR, la PID précédant l'atteinte articulaire, 2) Les modifications immunologiques liées à la PR (auto-immunité, inflammation...) pourraient être responsables de lésions pulmonaires secondaires.

Ainsi, la PR-PID pourrait être le site d'initiation de la rupture de tolérance des antigènes citrullinés, spécifique de la PR à l'origine des ACPA considérés aujourd'hui comme pathogènes (72, 73) et la complication d'organe d'une maladie systémique auto-immune.

1.3.1. Le poumon : site d'initiation de l'auto-immunité spécifique de la PR ?

1.3.1.1. *La plupart des facteurs de risque environnementaux de la PR sont inhalés*

Parmi les facteurs de risque environnementaux associés à la PR, il est important de noter que la plupart sont des facteurs inhalés suggérant qu'un stress de l'épithélium bronchique pourrait participer à la physiopathologie de la PR. Ainsi, le tabagisme est un des facteurs environnementaux principaux de la PR (3, 74). D'autres facteurs inhalés ont également été associés à la PR comme la silice minérale, rappelant le syndrome de Caplan décrit chez les mineurs de charbon, et la poussière des textiles (75, 76). Enfin, de manière plus générale, plusieurs études suggèrent une association entre la pollution atmosphérique et la PR. Une étude taiwanaise mettait en évidence une augmentation de l'incidence de la PR en zone urbaine comparée aux zones rurales (77). De même, une étude réalisée sur la cohorte de la Nurses' Health Study, observait une association entre la PR et une habitation se situant à moins de 50 m d'une route, suggérant les produits de combustion des carburants comme possibles facteurs de risque (78).

Il faut noter que les associations avec le tabac et la silice sont spécifiques de la PR séropositive pour les ACPA renforçant le lien entre facteurs de risque environnementaux inhalés et immunité dirigée contre peptides citrullinés (3, 76).

1.3.1.2. *Production locale d'ACPA précédant le diagnostic de PR*

Plusieurs travaux ont montré une production précoce d'ACPA. Ainsi, les ACPA peuvent être présents dans le sérum des patients PR jusqu'à 15 ans avant l'apparition des premières arthrites (79, 80). L'analyse de cette production précoce d'ACPA montre que les isotypes

Immunoglobuline (Ig) A sont les premiers à apparaître, suggérant une production d'origine muqueuse, concordant avec l'hypothèse de l'épithélium bronchique comme site initial du processus conduisant à la rupture de tolérance des antigènes citrullinés (81, 82) (Figure 7).

Figure 7. Pourcentage cumulé de patients positifs aux anticorps anti-protéines cycliques citrullinées (CCP) en fonction de l'isotype avant le diagnostic de polyarthrite rhumatoïde, (d'après (81))

L'hypothèse d'une origine pulmonaire des ACPA est renforcée par la présence d'un enzyme responsable de la citrullination, la peptidylarginine déiminase (PAD)-2 au sein du tissu pulmonaire. Son expression, sa concentration et celle des protéines citrullinées sont augmentées dans le lavage broncho-alvéolaire (LBA) des patients fumeurs (83, 84). Le tabac, ainsi que les autres facteurs de risque inhalés sont à l'origine d'un stress oxydatif local, induisant une augmentation de la citrullination des protéines environnantes et pourrait ainsi contribuer à la production pulmonaire d'ACPA. L'analyse des LBA de patients présentant une PR récente de moins d'un an montrait une proportion plus importante de lymphocytes activés comparé à des patients témoins, suggérant des phénomènes inflammatoires très précoces au sein du parenchyme pulmonaire des patients atteints de PR. Cette activation lymphocytaire n'était observée que chez les patients positifs pour les ACPA (85). Enfin, la muqueuse bronchique des patients PR comporte également des follicules lymphoïdes tertiaires ou Bronchial Associated Lymphoid Tissue (BALT) au sein desquels une production locale d'ACPA et de FR a été mise en évidence (86, 87).

L'hyper-citrullination favorisée par le tabagisme pourrait donc être à l'origine d'une production pulmonaire d'ACPA. Cette production pourrait être favorisée chez les individus possédant certains allèles du *HLA-DRB1* composés d'une série d'acides aminés particuliers appelés « épitope partagé » (shared epitope = SE), assurant une présentation d'antigènes citrullinés spécifique qui conduirait à une rupture de tolérance (Figure 8). On notera *i)* que les allèles *HLA-DRB1*SE* constituent aujourd'hui le principal facteur de risque de la PR, *ii)* que cette association est restreinte aux patients positifs pour les ACPA et *iii)* qu'il existe une interaction entre le tabagisme et *HLA-DRB1*SE*, là encore, restreinte aux patients présentant une PR séropositive pour les ACPA (3) (Figure 2).

Figure 8. Hypothèse du poumon comme site d'initiation de la rupture de tolérance vis-à-vis des antigènes citrullinés (d'après (88)).

1.3.2. L'auto-immunité de la PR à l'origine d'une atteinte pulmonaire interstitielle ?

Si le poumon est proposé par certains comme site d'initiation des processus physiopathogéniques de la PR, les modifications immunologiques et inflammatoires liées à la PR pourraient également favoriser la survenue d'une PR-PID.

Un premier argument en faveur de cette hypothèse est l'association entre l'activité de la PR et la survenue d'une PR-PID (28, 32-34). L'efficacité suggérée de plusieurs traitements immunomodulateurs utilisés dans la PR sur la PID sous-entend qu'une absence de contrôle de l'inflammation participerait au développement de l'atteinte pulmonaire (41, 69). Un second est la relation entre la durée d'évolution de la PR et l'incidence croissante de la PID (11).

Le modèle murin SKG soutient l'hypothèse d'un rôle délétère de l'inflammation systémique sur le poumon au cours de la PR. Les souris SKG qui présentent une altération de la sélection négative et positive des lymphocytes T auto-réactifs au niveau du thymus (89). Lors d'une immunisation par zymosan, ces souris développent des lésions articulaires et interstitielles pulmonaires semblables à celles observées dans la PR-PID (89). Il est important de noter que les lésions pulmonaires observées chez les souris SKG étaient similaires à la PINS et qu'aucune lésion de type PIC n'était mise en évidence (89). Les arthrites et les lésions pulmonaires trouvées chez les souris SKG semblent être initiées par des lymphocytes T auto-réactifs mais la réaction inflammatoire articulaire et pulmonaire semble s'auto-entretenir avec un rôle important des polynucléaires neutrophiles IL-17A⁺ notamment au niveau pulmonaire (90, 91).

L'occurrence d'une PID au cours de la PR pourrait donc résulter de deux mécanismes probablement non exclusifs : *i*) une atteinte pulmonaire initiale (tabagisme...) à l'origine d'une hyper-citrullination et d'une inflammation locale, responsable de l'immunité anti-peptides citrullinés observée dans la PR et *ii*) l'inflammation et l'auto-immunité induite dans la PR favorisant probablement les lésions de PID (Figure 9). A ce jour et à notre connaissance, l'hypothèse d'un rôle pathogène des ACPA sur le tissu pulmonaire n'a pas fait l'objet d'étude.

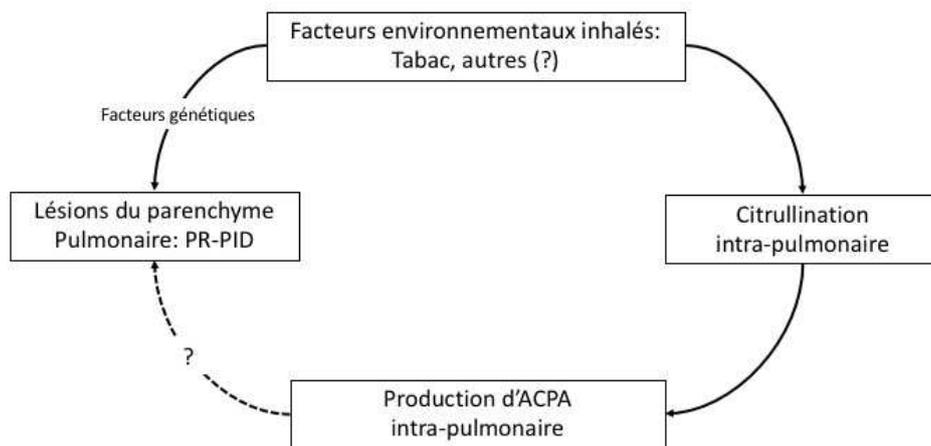


Figure 9. Hypothèse physiopathologique de la pneumopathie interstitielle diffuse associée à la polyarthrite rhumatoïde (PR-PID). ACPA : anticorps anti-peptides citrullinés

1.4. Arguments en faveur de processus physiopathogéniques communs entre la PR-PID et la FPI

Parmi les PID associées aux connectivites (CT-PID), la PR-PID présente des caractéristiques communes avec la FPI (tableau 5).

1.4.1. Caractéristiques phénotypiques communes entre la PR-PID et la FPI

L'aspect scannographique de PIC, caractéristique de la FPI, est aussi l'aspect le plus fréquemment observé au cours de la PR-PID. Cette fibrose se traduit dans la FPI par une activation anormale des processus fibrotiques avec élévation de certaines protéines sériques (Matrix Métalloprotéinase 7, Surfactant Protein (SP)-D, Krebs Von den Lungen 6) également observée dans la PR-PID (92, 93). La PR-PID partage également avec la FPI le même terrain (sexe masculin, âge élevé) ainsi qu'un facteur de risque environnemental : le tabac. Enfin, la PR-PID et la FPI sont des maladies progressives et de pronostic similaire (Figure 10) (58, 59).

Figure 10. Courbes de survie de patients PR-PID et FPI (d'après (58)).

1.4.2. Auto-immunité partagée

Pourtant spécifique de la PR, l'immunité dirigée contre les peptides citrullinés semble être également observée au cours de la fibrose pulmonaire hors PR. La positivité pour les ACPA a été associée à des anomalies scannographiques interstitielles pulmonaires infra-cliniques (interstitial lung abnormalities ou ILA) dans une étude incluant des patients ne présentant pas de PR (94). Plus récemment, une positivité pour les ACPA a été identifiée chez des patients FPI (95). Dans cette étude, les ACPA étaient plus fréquemment observés chez des patients FPI issus de deux cohortes indépendantes que chez des individus témoins sains (21.3% and 24.8% vs 5.6%, respectivement) (95). Les patients FPI étaient plus souvent positifs pour l'isotype IgA que pour l'isotype IgG (23,3% vs 8,3%) alors que les patients présentant une PR étaient plus fréquemment positifs pour l'isotype IgG que pour l'IgA (72,5% vs 52,5%) (95).

1.4.3. Locus HLA, PR-PID et FPI

Un GWAS réalisé sur 1616 patients européens caucasiens atteints de FPI et 4683 témoins de même origine ethnique, suivie d'une étude de réplication composée de 878 cas de FPI et 2017 témoins, a mis en évidence une association entre la FPI et 2 allèles en fort déséquilibre de liaison, *HLA-DRB1*1501* ($P=1,3 \times 10^{-7}$) et *HLA-DQB1*0602* ($P=6,1 \times 10^{-8}$), suggérant un rôle du système immunitaire dans la physiopathologie de la FPI (96). Dans une étude japonaise de Furukawa *et al.* incluant 129 cas de PR-PID et 321 cas de PR-non PID, une

association était également observée entre les allèles des sous-groupes *HLA-DRB1*15* et *HLA-DQB1*06* et la PR-PID (97).

Facteurs de risques communs
- Génétiques : locus <i>HLA-DRB1</i> - Environnementaux : Tabac
Caractéristiques phénotypiques communes
- Caractéristiques cliniques : sexe masculin, âge (5 ^{ème} – 6 ^{ème} décennie) - Aspect scannographique : PIC - Évolution progressive - Pronostic sévère - Auto-immunité liée à la PR : IgA-ACPA, FR

Tableau 5. Similitudes entre PR-PID et FPI

1.5. Principale hypothèse de travail : des voies physiopathogéniques communes

suggèrent l'existence d'un fond génétique partagé entre PR-PID et FPI

1.5.1. Génétique de la PR-PID

A l'initiation de ce travail, peu d'études s'étaient intéressées à l'identification de facteurs de susceptibilité génétiques de la PR-PID.

Une étude réalisée en 1986 suggérait une association entre PR-PID et déficit en α_1 -antitrypsine (98). Cette étude de faible effectif incluait 62 patients PR dont 14 présentaient des signes de fibrose pulmonaire sur les clichés radiographiques. Le déficit en α_1 -antitrypsine était analysé par méthode phénotypique. Une fibrose pulmonaire était observée chez 3,3% des patients présentant un phénotype normal ($M_1 M_1$) contre 40,6% des patients présentant un autre phénotype. Les auteurs concluaient à un possible rôle de l' α_1 -antitrypsine et de ses

variants dans la physiopathologie de la PR-PID. On notera que cette étude ne comprenait pas d'étape de réplique limitant les conclusions.

Des travaux réalisés en population japonaise observaient une association entre certains allèles du locus *HLA-DR* et PR-PID. Dans une étude incluant 131 patients atteints de PR dont 44 présentaient une PID diagnostiquée par TDM-HR, Migita *et al.* ne mettaient pas en évidence d'association significative entre PR-PID et les allèles *HLA-DRB1*SE* (PR-PID : 45,5% vs PR-non PID : 49,4%, OR = 0,85 ; IC_{95%} : 0,51 – 1,43) ou le statut *HLA-DR4* (*HLA-DRB1*04*) (PR-PID : 42,0%, vs PR-non PID : 47,1%). Toutefois, une association était observée entre la PR-PID et l'allèle *HLA-DRB1*1502* (PR-PID : 20,5%, vs PR-non PID : 6,3%, OR = 3,81 ; IC_{95%} : 1,71 – 8,49 ; *P* corrigée = 0,0126) (99). À la suite de cette étude, Furukawa *et al.*, ont génotypé le locus *HLA-DRB1* de 129 patients PR-PID et 321 patients PR sans PID clinique (97). Cette étude mettait en évidence un effet protecteur des allèles *HLA-DRB1*SE* (PR-PID : 35,7% vs PR-non PID : 45,9%, OR = 0,66 ; IC_{95%} : 0,49 – 0,88 ; *P* = 0,012). Le *HLA-DRB1*04* avait également un effet protecteur (27,5% vs 40,1%, OR = 0,57 ; IC_{95%} : 0,41 – 0,78 ; *P* corrigée = 0,0054) (97). A l'inverse, une association positive pour la PR-PID était observée avec l'allèle *HLA-DRB1*16* (OR = 15,21 ; *P* corrigée = 0,0372), avec le groupe *HLA-DR2*, composé des allèles *HLA-DRB1*15* et **16*, (OR = 1,75 ; *P* corrigée = 0,0020) et avec l'allèle *HLA-DQB1*06* (OR = 1,57, *P* corrigée = 0,0333) (97). Ces associations étaient répliquées dans une dernière étude japonaise qui incluait un plus grand nombre de patients (290 PR-PID et 773 PR sans PID) (100).

Enfin, une étude coréenne avait étudié 3 polymorphismes du gène codant pour la PAD-4 (*PADI4_89* rs11203366, *PADI4_92* rs874881, *PADI4_104* rs1748033) dans une population de taille limitée constituée de 8 patients PR-PID, 92 patients PR présentant des anomalies bronchiques (épaississement bronchique ou bronchiectasies) et 22 patients PR sans anomalies

pulmonaires (101). Les auteurs n’observaient pas d’association entre les 3 polymorphismes et la PR-PID.

1.5.2. Génétique de la FPI

Le fond de susceptibilité génétique de la FPI est en partie connu. On distingue une hérédité monogénique et une hérédité polygénique (102). L’étude de formes familiales de fibrose pulmonaire (FPF) a permis l’identification de différents gènes au sein desquels des mutations pour lesquelles il existait un argument de liaison génétique avec la fibrose pulmonaire. Les études d’association pangénomiques ont permis l’identification de nombreux SNPs associés à la FPI (Tableau 6) (96, 103, 104). Parmi l’ensemble des gènes de susceptibilité, on peut distinguer deux grands groupes de gènes. Le premier rassemble les gènes codant pour des acteurs du complexe télomérase (*TERT*, *TERC*, *RTEL1*, *DKC1*, *TINF2*, *PARN...*) (105-107). Le second groupe concerne les gènes codant pour des protéines impliquées dans l’homéostasie bronchio-alvéolaire et notamment du surfactant (*SFTPA1*, *SFTPA2*, *SFTPC*, *ABCA3*, *MUC5B*) (108-112) (Figure 11).

Locus	Gène	Variant
3q26	<i>LRRC34</i>	rs6793295
4q22	<i>FAM13A</i>	rs2609255
5p15	<i>TERT</i>	rs2736100, Leu55Gln, Thr1110Met
6p21.3	<i>EHMT2</i>	rs7887
6p24	<i>DSP</i>	rs2076295
7q22	<i>Intergenic</i>	rs4727443
10q24	<i>OBFC1</i>	rs11191865

11p15.5	<i>MUC5B</i>	rs35705950
11p15.5	<i>TOLLIP</i>	rs5743890
11p15.5	<i>TOLLIP</i>	rs111521887
13q34	<i>ATP11A</i>	rs1278769
15q14-15	<i>IVD</i>	rs2034650
19p13	<i>DPP9</i>	rs12610495
15q25.3	<i>AKAP13</i>	rs62025270

Tableau 6. Revue des principaux variants génétiques associés à la fibrose pulmonaire idiopathique identifiés par GWAS (d'après (96, 103, 104)).

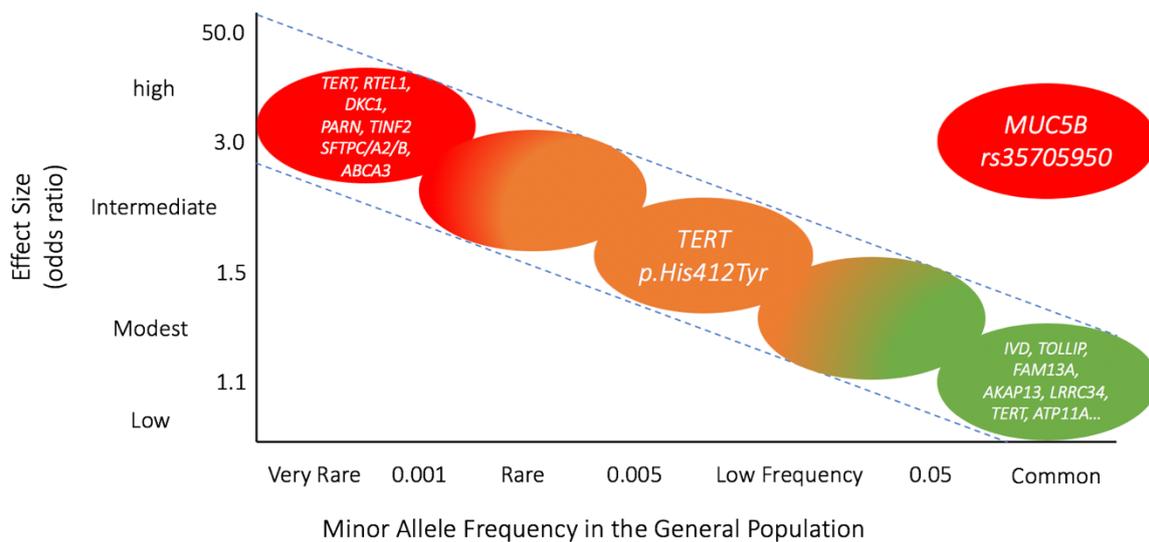


Figure 11. Schéma représentant l'architecture génétique de la FPI (d'après (1))

1.5.2.1. Mutations dans les gènes impliqués dans le complexe télomérase

Les télomères sont des régions d'ADN non codantes situées à l'extrémité des chromosomes qui permettent de les protéger de la perte d'information génétique. Ils participent également à la sénescence cellulaire programmée, phénomène correspondant à un vieillissement des fonctions cellulaires et permettant de limiter la prolifération infinie des

cellules somatiques (113). En effet, la réduction de la taille des télomères après chaque cycle cellulaire aboutit à l'arrêt irréversible de la prolifération par entrée définitive de la cellule en phase G1 (113). Les télomères sont des structures essentielles qui permettent l'équilibre entre vieillissement cellulaire et prolifération cellulaire illimitée. Leur taille est soumise à une étroite régulation réalisée notamment par un complexe enzymatique participant à leur élongation : la télomérase (Figure 12).

Figure 12. Principaux complexes impliqués dans la synthèse des télomères
(d'après (114))

Il existe une association entre taille courte des télomères et fibrose pulmonaire (115). Le syndrome des télomères courts, ou téloméropathie, qui regroupe les manifestations cliniques liée à une réduction pathologique de la taille des télomères associe, entre autres, signes cutanés (dyskératose congénitale), hématologiques (anémie aplastique, syndrome myélodysplasique...), hépatiques (hypertension portale, hyperplasie nodulaire régénérative, cirrhose) et fibrose pulmonaire. Ainsi, plusieurs mutations au sein de gènes composant le complexe télomérase ont été liées à des formes familiales de FP.

La dyskératose congénitale, première téloméropathie décrite, associe dystrophie unguéale, hyperpigmentation cutanée localisée et leucoplasie orale (116). Les patients peuvent présenter une fibrose pulmonaire dans 20% des cas (116). Des mutations au sein du gène *DKC1* ont premièrement été rapportées dans une forme de dyskératose congénitale liée à l'X (117). Des mutations hétérozygotes dans d'autres gènes appartenant au complexe télomérase (*TERC*, *TERT*, *TINF2* et *ACD*) ont été ensuite mises en évidence dans des familles de dyskératose

congénitale pouvant présenter des atteintes pulmonaires interstitielles, selon un mode de transmission autosomique dominante (114). Ces gènes ont été impliqués dans les FPF (isolées ou associées à d'autres éléments du syndrome des télomères courts) avec identification de mutations de *TERT*, *TERC*, *DKC1*, *PARN* et *TINF2* dans des FPF (105, 118-121). Enfin, des mutations de *RTEL1* ont également été impliquées dans des FPF (107, 121).

1.5.2.2. Mutations dans les gènes impliqués dans le surfactant

Le surfactant est un film phospholipidique tapissant la surface des alvéoles à leur interface air-liquide. Grâce à ses propriétés tensio-actives, il empêche le collapsus alvéolaire en fin d'expiration (122). Il est aussi impliqué dans la réponse anti infectieuse et participe à la clairance muco-ciliaire (123). Le surfactant est composé de 90% de lipides et de 10% de protéines dont 2 à 3% sont spécifiques : SP-A, SP-B, SP-C et SP-D codées respectivement par les gènes *SFTPA*, *SFTPB*, *SFTPC* et *SFTPD*. Le transporteur ATP-Binding Cassette famille A (*ABCA3*) permet le transport de SP-B et SP-C vers la membrane cellulaire (124). Enfin, le facteur de transcription homeobox NK2 (*NKX2.1*) active la transcription de *SFTPB*, *SFTPC* et *ABCA3*.

Des mutations ont été identifiées dans des formes monogéniques de fibroses pulmonaires au sein des gènes *SFTPA1*, *SFTPA2*, *SFTPB*, *SFTPC*, *ABCA3* et *NKX2.1* (108, 109, 122, 124-126). Différents phénotypes peuvent être liés à ces mutations. Ainsi, les mutations de *SFTPC* sont responsables de formes FPF de l'adulte comme de l'enfant, de PINS comme de PIC (127, 128). Les mutations de *SFTPB* ont été uniquement décrites dans les formes pédiatriques de fibrose pulmonaire (122).

1.5.2.3. Le variant rs35705950 du promoteur de MUC5B

En 2011, Seibold *et al.* identifient le SNP rs35705950 G>T, situé dans le promoteur de *MUC5B*, comme fortement associé aux formes sporadiques de FPI et aux FPF (Figure 13a) (110). *MUC5B* code pour la protéine Mucine 5B, Muc5b, exprimée par les cellules épithéliales bronchiolaires et en cas de FPI par les cellules de l'épithélium métaplasique qui tapisse les kystes du rayon de miel (110). Dans la population caucasienne, la MAF de rs35705950 est d'environ 10% dans la population générale contre $\approx 35\%$ dans la population des patients atteints de FPI (110). Ce variant est associé à une surexpression de MUC5B chez les sujets sains porteurs de l'allèle à risque (110) (Figure 13b). Plus précisément, *MUC5B* rs35705950 est situé au sein de la région enhancer du promoteur de *MUC5B* reconnue par certains facteurs de transcriptions comme Forkhead box protein A2 (FOX2A) ou spliced X-box-binding protein 1 (XBP1S) (Figure 13c et d) (129, 130). Les mécanismes par lesquels *MUC5B* rs35705950 entraînent une surexpression de Muc5b ne sont pas clairement établis. *MUC5B* rs35705950 constitue aujourd'hui le principal facteur de risque connu de la FPI (OR = 8,3 ; IC_{95%} : 5,8 – 11,9 ; $P = 4,6 \times 10^{-31}$) (131). Par ailleurs, l'allèle de susceptibilité rs35705950 T semble également être un facteur pronostique puisqu'associé à une meilleure survie chez les patients atteints de FPI (131, 132).

a.

Figure 13. *MUC5B* rs35705950 facteur de susceptibilité de la fibrose pulmonaire idiopathique,
a) Résultat d'une étude d'association pangénomique réalisée dans la FPI (d'après (133)). b) 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 (110)). c et d) Région

enhancer du promoteur de *MUC5B* et facteurs de transcription FOXA2 et XBP1S (d'après (110) et (130)).

La PR-PID et la FPI partagent donc de nombreuses caractéristiques phénotypiques ainsi qu'un risque environnemental commun suggérant l'existence d'un fond de susceptibilité génétique commun, constituant ainsi notre principale hypothèse de travail.

2. OBJECTIFS

Ce travail a eu pour objectif d'identifier des facteurs de susceptibilité génétiques et facteurs de risque environnementaux de PR-PID

3. STRATEGIES D'ETUDES

Plusieurs stratégies ont été choisies reprenant le modèle d'architecture génétique proposé par Manolio *et al.* :

- Identification de mutations à effet fort par étude d'association génétique cas-témoins, selon une approche gènes-candidats (gènes déjà liés à des FPF), utilisant des données de séquençage d'exome
- Identification d'un SNP à effet fort par étude d'association génétique cas-témoins et intra-cas, selon une approche gène candidat, (principal facteur de risque de la FPI : *MUC5B* rs35705950), utilisant des données de génotypage
- Une étude rétrospective d'association cas-témoins explorant l'impact d'une exposition au MTX sur le risque de survenue d'une PID au cours de la PR

4. PRINCIPAUX RESULTATS ACQUIS

4.1. Mise en évidence chez des patients PR-PID d'un excès de mutations au sein des gènes liés à la Fibrose Pulmonaire Familiale

4.1.1. Rappel méthodologique

Dans ce premier travail, nous avons réalisé une étude d'association génétique cas-témoins multicentrique française, comparant des patients atteints de PR-PID à des témoins sains.

4.1.1.1. *Patients et témoins*

Les patients PR-PID ont été inclus à partir de plusieurs centres rhumatologiques et pneumologiques. Le diagnostic de PR était effectué par un rhumatologue selon les critères ACR/EULAR 2010 (134). Le diagnostic de PID reposait sur la présence d'une PID sur le TDM thoracique relu par un radiologue expert. L'aspect scannographique de la PID était classée par un senior radiologue selon les critères internationaux en : PIC certaine, PIC possible, PINS, Pneumopathie organisée ou inclassable (135). Les individus témoins correspondaient à des individus sains pour lesquels des données de WES étaient disponibles via une collaboration avec le consortium FREX (<http://lysine.univ-brest.fr/FrExAC/>) et l'équipe du Pr P. Froguel (CNRS UMR 8199, F-59000 Lille, France).

4.1.1.2. *Analyse des données de séquençage d'exome*

L'analyse bio-informatique des données de séquençage d'exome s'est d'abord limitée aux variants situés au sein de gènes candidats liés aux FPF (*TERT*, *TERC*, *RTEL1*, *DKC1*, *TINF2*, *PARN*, *SFTPC*, *SFTPA2*, *ABCA3*). Les variants déjà connus pour être liés aux FPF ont d'emblée été

sélectionnés. Dans un deuxième temps, les variants rares possédant une MAF <0,01 dans la base de données ExAC ont été retenus. L'impact fonctionnel supposé des variants exoniques retenus a ensuite été évalué par plusieurs scores prédictif : Polyphen-2, Sorting Intolerant From Tolerant (SIFT ; sift.jcvi.org), Mutation Taster (mutationtaster.org), le score Genomic Evolutionary Rate Profiling (GERP) et le score Combined Annotation-Dependent Depletion (CADD) v1.2. Les variants prédits comme « probablement délétères » dans Polyphen-2 et/ou « délétères » dans SIFT et/ou « pathologiques » dans Mutation Taster, ayant un score GERP ≥ 2 et un score CADD ≥ 10 ont été retenus (Figure 14). L'ensemble des mutation identifiées par analyse d'exome étaient confirmées par séquençage Sanger.

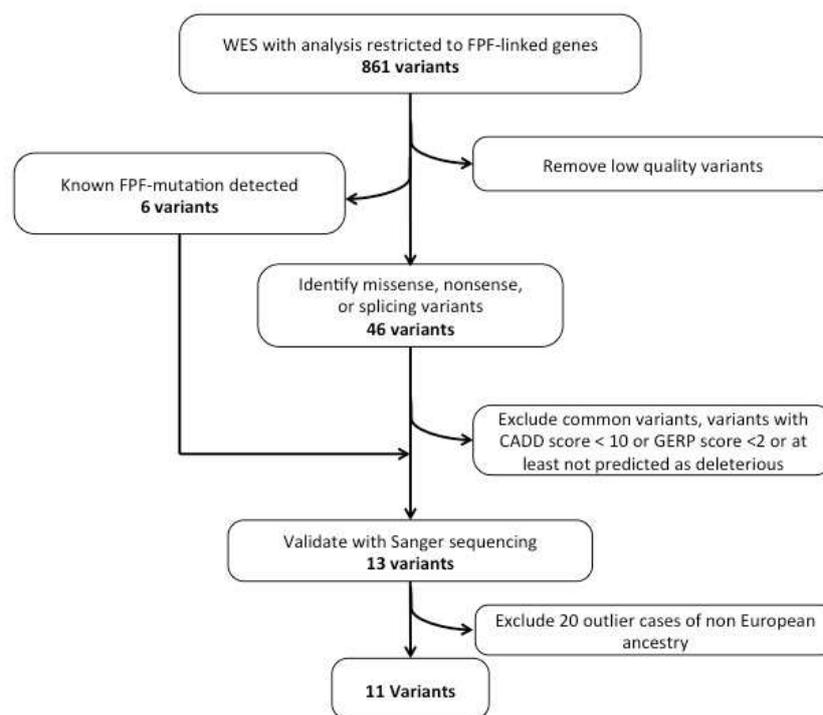


Figure 14. Schéma d'analyse des variants identifiés avec l'analyse d'exome dans notre première étude (d'après (136)).

4.1.1.3. Burden Test

Un burden test a été réalisé afin d'estimer l'excès de mutations dans la population PR-PID comparé à la population témoin. Une valeur de $P < 0,005$ était considérée comme

significative, compte-tenu de la correction de Bonferroni inhérente à l'approche « gène-candidat » qui comprenait 9 locus.

4.1.1.4. *Analyses d'association génotype-phénotype*

Dans notre première étude, les données phénotypiques des patients PR-PID présentant des mutations dans les gènes candidats ont été comparées à celles des patients PR-PID pour lesquels aucune mutation n'a été identifiée. Les variables quantitatives, exprimées en médianes, ont été comparées à l'aide d'un test T de student. Les variables qualitatives, exprimées en nombre (%), ont été comparées à l'aide d'un test exact de Fisher. Des tests non paramétriques ont été utilisés du fait du faible nombre de patients pour lesquels une mutation a été identifiée. Les longueurs des télomères des patients présentant une mutation au sein des gènes impliqués dans la maintenance des télomères (n=11) et celles de 15 témoins sains appariés pour l'âge a été réalisée à l'aide d'une régression logistique.

4.1.2. Principaux résultats

Nous avons mis en évidence 13 mutations hétérozygotes chez 12 patients PR-PID au sein des régions codantes des gènes *TERT*, *RTEL1*, *PARN* et *SFTPC* (Table 7). Le burden test a révélé un excès de mutations chez les patients PR-PID comparé à des témoins sains européens caucasiens (OR = 3,17 ; IC_{95%} : 1,53 – 6,12 ; $P = 9,45 \times 10^{-4}$) (Figure 15).

Case	Locus	Modification du c-DNA	Modification d'acide aminé	GERP Score	Polyphen-2	SIFT	MutationTaster	CADD Score
1	<i>PARN</i>	c.1749_1750delAG	p.Ser585fs*5	5.51	–	–	–	28.6
2	<i>RTEL1</i>	c.2695T>C	p.Phe899Leu	4.59	D	D	D	16.34
3	<i>RTEL1</i>	c.2824G>A	p.Asp942Asn	4.83	D	T	D	22.3
4	<i>RTEL1</i>	c.2875C>T	p.His959Tyr	4.82	D	D	D	15.28
5	<i>RTEL1</i>	c.2890T>C	p.Phe964Leu	4.82	D	D	D	14.85
6	<i>TERT</i>	c.2383-2A>G	–	4.35	–	–	D	23.6
7	<i>TERT</i>	c.3323C>T	p.Pro1108Leu	2.96	P	D	D	16.12
8	<i>TERT</i>	c.1234C>T	p.His412Tyr	2.32	D	D	N	10.1
9	<i>TERT</i>							
10	<i>TERT</i>							
11	<i>TERT</i>							
	<i>SFTPC</i>	c.218T>C	p.Ile73Thr	4.68	P	D	A	17.67
12	<i>SFTPC</i>	c.180G>A	p.Met60Ile	4.56	B	T	D	22.3

Table 7. Caractéristiques des mutations identifiées chez les patients PR-PID

Figure 15. Résultats du Burden test mettant en évidence un excès de mutations au sein de gènes liés aux FPF dans une population de patients PR-PID

L'impact structural des nouvelles mutations identifiées dans *TERT* et *RTEL1* a été exploré par modélisation 3D des protéines codées par ces deux gènes et a montré que les mutations observées appartenaient à des domaines fonctionnels importants. La modification d'acides-aminés au sein de ces domaines pourrait entraîner des perturbations fonctionnelles.

L'analyse des données génotype-phénotype mettait en évidence un âge au diagnostic de PID plus jeune chez les patients porteurs de mutation que chez les patients chez qui aucune mutation n'avait été observée. Un âge au diagnostic de PID entre 36-41 ans conférait un risque plus élevé de porter une mutation ($P = 0,040$). Lorsque l'analyse se limitait aux patients présentant une PR-PIC, l'association était renforcée (OR = 4,10 ; IC_{95%} : 1,86 – 9,24) renforçant

le lien entre mutations liées aux fibroses pulmonaires et PR-PIC. Aucune autre différence phénotypique n'a été observée.

La taille des télomères des 11 patients porteurs de mutations au sein des gènes impliqués dans la maintenance des télomères était significativement plus courte que celles de témoins sains appariés pour l'âge ($P=0,0114$) (Figure 16).

Figure 16. Analyse de régression linéaire de la longueur des télomères chez les patients PR-PID porteurs de mutations au sein de gènes impliqués dans la maintenance des télomères (en rouge) et chez des témoins.

Ce travail a fait l'objet d'une publication dans la revue internationale The European Respiratory Journal accompagnée d'un éditorial (annexe 1) :

P-A. Juge, R. Borie, C. Kannengiesser, S. Gazal, P. Revy, L. Wemeau-Stervinou, M-P. Debray, S. Ottaviani, S. Marchand-Adam, N. Nathan, G. Thabut, C. Richez, H. Nunes, I. Callebaut, A. Justet, N. Leulliot, A. Bonnefond, D. Salgado, P. Richette, J-P. Desvignes, H. Lioté, P. Froguel, Y. Allanore, O. Sand, C. Dromer, R-M. Flipo, A. Clément, C. Bérout, J. Sibilia, B. Coustet, V. Cottin, M-C. Boissier, B. Wallaert, T. Schaefferbeke, F. Dastot le Moal, A. Frazier, C. Ménard, M. Soubrier, N. Saitenberg, D. Valeyre, S. Amselem, the FREX consortium, C. Boileau, B. Crestani and P. Dieudé. Shared genetic predisposition in rheumatoid arthritis-interstitial lung disease and familial pulmonary fibrosis. **Eur Respir J.** 2017;49(5).(136)

4.2. Association entre *MUC5B* rs35705950 et la PR-PID

Le travail précédent ayant suggéré une architecture génétique commune entre FPI et PR-PID, nous avons exploré, dans cette deuxième étude, le facteur de risque le plus important de la FPI, le variant rs35705950 du promoteur de *MUC5B*. Afin de pouvoir conclure au possible rôle de *MUC5B* rs35705950 comme FDR de PID au cours de la PR, nous avons inclus une analyse intra-cas avec des patients PR-non PID.

4.2.1. Rappel méthodologique

4.2.1.1. *Patients et témoins*

Cette étude génétique d'association cas-témoin était constitué d'une étape de découverte française et d'une étape de répliation multiethnique (Mexique, USA, Japon, Grèce, Pays-Bas, Chine). Ont été inclus des patients PR-PID, des témoins sains (mêmes critères d'inclusion que pour notre premier travail) et des patients PR ne présentant pas de PID (PR-non PID). L'absence de PID était confirmée par la réalisation d'un TDM thoracique à l'exception des patients issus de la population américaine pour lesquels l'absence de PID était établie par auto-déclaration.

4.2.1.2. *Génotypage de *MUC5B* rs35705950*

Le génotypage de *MUC5B* rs35705950 a été réalisé soit par méthode de génotypage TaqMan (Applied Biosystem) comme précédemment rapporté (110) soit par séquençage Sanger soit par imputation à partir des données de GWAS. Le génotypage des 12 variants additionnels de susceptibilité de la FPI a été effectué par PCR quantitative TaqMan (Thermo Fisher Scientific).

4.2.1.3. Analyse statistique

L'analyse d'association génétique cas-témoins a été effectuée par régression logistique sans covariables (résultats bruts) puis ajustée sur le sexe, l'âge à inclusion, le statut tabagique, la population d'origine (résultats ajustés). Le meilleur modèle (dominant ou additif) a été déterminé à l'aide du critère d'information de Akaike (AIC). La comparaison de l'effet « PR-PIC vs PR-non PID » et de l'effet « PR-non PIC vs PR-non PID » a été réalisée à l'aide d'un z-test.

Le calcul de la puissance de détection pour les 13 variants associés à la FPI (*MUC5B* rs35705950 et les 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 (voir supplementary appendix du manuscrit).

4.2.2. Principaux résultats

L'étape de découverte en population française comprenait, 118 patients PR-PID, 105 patients PR-non PID et 1229 témoins sains. L'étape de réplication multi-ethnique incluait 502 patients PR-PID, 509 patients PR-non PID et 4219 témoins sains.

L'étape de découverte a mis en évidence une association significative entre l'allèle T de *MUC5B* rs35705950 et la PR-PID (MAF : 10,9% chez les témoins vs 32,6% chez les patients PR-PID, $OR_{aj} = 3,8$; $IC_{95\%} : 2,8 - 5,2$; $P = 9,7 \times 10^{-17}$). Cette association était également observée

dans l'étape de réplification multi-ethnique ($OR_{aj} = 5,5$; $IC_{95\%} : 4,2 - 7,3$; $P = 4,7 \times 10^{-35}$) et dans l'analyse combinée ($OR_{aj} = 4,7$; $IC_{95\%} : 3,9 - 5,8$; $P = 1,3 \times 10^{-49}$).

Aucune association n'était mise en évidence entre *MUC5B* rs35705950 et la PR-non PID en comparaison à la population témoin. De plus, l'analyse intra-cas comparant les populations PR-PID et PR-non PID a mis en évidence une association entre *MUC5B* rs35705950 T et la survenue d'une PID au cours de la PR dans l'étape de découverte ($OR_{aj} = 3,1$; $IC_{95\%} : 1,6 - 6,3$; $P = 9,4 \times 10^{-4}$), dans l'étape de réplification multi-ethnique ($OR_{aj} = 2,9$; $IC_{95\%} : 1,1 - 8,4$; $P = 0,04$) et dans l'analyse combinée ($OR_{aj} = 3,1$; $IC_{95\%} : 1,8 - 5,4$; $P = 7,4 \times 10^{-5}$). Ces résultats démontrent que *MUC5B* rs35705950 est un facteur de susceptibilité de la PID parmi les patients PR.

L'analyse incluant l'aspect scannographique de la PR-PID a montré que l'association entre *MUC5B* rs35705950 T et le risque de PID au cours de la PR était restreinte aux patients présentant un aspect de PIC ou une PIC possible. Ce, à l'étape de découverte ($OR_{aj} = 5,0$; $IC_{95\%} : 2,1 - 12,3$; $P = 3,0 \times 10^{-4}$), de réplification multi-ethnique ($OR_{aj} = 9,2$; $IC_{95\%} : 2,3 - 38,7$; $P = 0,002$) et lors de l'analyse combinée ($OR_{aj} = 6,1$; $IC_{95\%} : 2,9 - 13,1$; $P = 2,5 \times 10^{-6}$) (Figure 17).

Figure 17. Association génétique entre *MUC5B* rs35705950 T et la PR-PID restreinte au phénotype PIC. Les carrés rouges représentent les OR avec leur $IC_{95\%}$

L'analyse immuno-histochimique d'explants pulmonaires issus de patients PR-PID mettait en évidence des caractéristiques communes avec la FPI avec un marquage de *MUC5B* au niveau des cellules de l'épithélium bronchique et du rayon de miel microscopique. Avec un nombre limité d'échantillons, aucune différence dans l'expression de *MUC5B* n'était observée en fonction du génotype.

Enfin, dans une étape exploratoire, nous avons analysé 12 autres variants communs précédemment associés au risque de FPI dans 3 populations (France, Mexique, USA). Les

résultats suggéraient une association entre 2 autres variants additionnels (*TOLLIP* rs5743890 et *IVD* rs2034650) et la PR-PID. Les signaux d'associations détectés dans la PR-PID étaient de même direction et de même magnitude que ceux observés dans la FPI. Ces résultats devront être confirmés par une étude de réplication.

Cette étude a fait l'objet de la publication dans la revue internationale *The New England Journal of Medicine* et d'un éditorial (annexe 2) :

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. González-Pérez, M. Mejía, I. Buendía-Roldán, R. Falfan-Valencia, E. Ambrocio-Ortiz, E. Manali, S. 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. Clement, 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. Schwartz, 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. *MUC5B* promoter variant and rheumatoid arthritis – interstitial lung disease. *N Engl J Med*. 2018;379(23):2209-19.

4.3. Méthotrexate et risque de survenue d'une PID dans la PR

L'impact de certains médicaments tels que le MTX, pierre angulaire du traitement de la PR, sur le développement d'une PID au cours de la PR reste débattu. Dans cette étude rétrospective d'association cas-témoins, nous avons étudié l'influence d'une exposition au MTX sur le risque de survenue d'une PID chez les patients atteints de PR.

4.3.1. Rappel méthodologique

4.3.1.1. *Patients*

Pour notre étude sur le MTX, des patients atteints de PR-PID et PR-non PID ont été inclus selon les mêmes critères que nos travaux précédents dans 6 différents pays (France, USA, Royaume-Uni, Italie, Mexique, Brésil). Les patients dont la PID précédait la PR et ceux ayant présenté une pneumopathie d'hypersensibilité ont été exclus de l'étude.

4.3.1.2. *Recueil des données*

Les données phénotypiques ont été récoltées pour chaque population (PR-PID et PR-non PID). Ces données comprenaient le sexe, l'âge à l'inclusion, l'âge au diagnostic de PR et de PID, le tabagisme et les exposition fibrogéniques, les caractéristiques de la PR (statut ACPA et FR, statut érosif), les traitements reçus pour la PR (MTX, anti-TNF α ...), les résultats des EFR à l'inclusion. Afin de s'affranchir du biais de prescription du MTX lié à la survenue d'une PR-PID, l'information sur l'exposition au MTX était recueillie entre la date de diagnostic de la PR et la date de diagnostic de PID sur la TDM-HR pour les patients PR-PID ou la date du dernier TDM-HR considéré comme normal pour les patients PR-non PID. Cette période était nommée « MTX exposure duration ».

4.3.1.3. *Analyses statistiques*

L'association entre exposition au MTX et le risque de survenue de PID au cours de la PR a été exprimée par des OR et analysée dans l'étape de découverte française et dans toutes les autres populations de réplication. Les associations observées dans chaque population ont été additionnées afin d'obtenir un OR global. Les analyses ont été ajustées pour l'âge au diagnostic de la PR, le sexe, un antécédent de tabagisme, l'utilisation de biothérapie, le centre d'inclusion, la durée de la période d'exposition au MTX considérée et la date de diagnostic de la PR. Afin de s'affranchir d'un biais de prescription du MTX lié à des recommandations différentes au temps du diagnostic de PR, nous avons classé les patients en 4 périodes de début de la PR : peu probable (avant 1985) (137), peu fréquent (1985 – 1995) (138, 139), fréquent (1996 – 2007) (140) et recommandé (depuis 2008). Tous les facteurs d'ajustement, l'exposition au MTX et la survenue d'une PR-PID ont été considérés dans un modèle d'imputation. Des analyses de sensibilité ont été réalisées en utilisant une régression logistique avec effet d'échantillonnage aléatoire, en retirant les population italienne et mexicaine au sein desquelles peu de patients n'avaient pas été exposés au MTX et en répétant l'analyse sur les cas complets.

4.3.2. Principaux résultats

Cette étude a inclus 410 patients PR-PID et 673 patients PR-non PID. Dans l'étape de découverte française (100 patients PR-PID et 165 patients PR-non PID), la proportion de patients traités par MTX était plus faible dans la population PR-PID que dans celle PR-non PID (60% vs 83%, respectivement). Après ajustement, nous avons observé une association inverse entre l'exposition au MTX et la survenue d'une PID au cours de la PR avec un $OR_{aj} = 0,46$; $IC_{95\%}$:

0,24 – 0,90 ; $P = 0,022$). Cette association inverse était confirmée dans l'étape de réplication internationale (310 patients PR-PID et 508 patients PR-non PID provenant des USA, du Brésil, du Mexique, du Royaume-Uni et de l'Italie) avec un $OR_{aj} = 0,39$; $IC_{95\%} : 0,19 – 0,79$; $P = 0,009$). L'analyse globale (étape de découverte + réplication) estimait un $OR_{aj} = 0,43$; $IC_{95\%} : 0,26 – 0,69$; $P = 0,0006$).

L'association inverse observée était indépendante de l'aspect scannographique de la PID (PIC vs non PIC). La comparaison des OR « PR-PIC vs PR-non PID » et « PR-PID non PIC vs PR-non PID » n'était pas statistiquement significative ($P = 0,54$).

Enfin, chez les patients PR-PID exposés au MTX on observait un délai dans le diagnostic de la PID comparativement aux patients non exposés au MTX ($11,4 \pm 10,4$ ans vs $4,0 \pm 7,4$ ans, respectivement). Après ajustement cette différence était estimée à 3,6 ans ; $IC_{95\%} : 2,6 – 4,7$; $P < 0,001$.

Ce travail a fait l'objet d'une publication dans la revue internationale The European Respiratory Journal :

P-A. Juge, J.S. Lee, J. Lau, L. Kawano-Dourado, J. Rojas Serrano, M. Sebastiani, G. Koduri, E. Matteson, K. Bonfiglioli, M. Sawamura, R. Kairalla, L. Cavagna, E. Bozzalla Cassione, A. Manfredi, M. Mejia, P. Rodríguez-Henriquez, M.I. González-Pérez, R. Falfán-Valencia, I. Buendia-Roldán, G. Pérez-Rubio, E. Ebstein, S. Gazal, R. Borie, S. Ottaviani, C. Kannengiesser, B. Wallaert, Y. Uzunhan, H. Nunes, D. Valeyre, N. Saidenberg-Kermanac'h, M-C. Boissier, L. Wemeau-Stervinou, R-M. Flipo, S. Marchand-Adam, P. Richette, Y. Allanore, C. Dromer, M-E. Truchetet, C. Richez, T. Schaefferbeke, H. Lioté, G. Thabut, K.D. Deane, J. Solomon, T. Doyle, J.H. Ryu, I. Rosas, V.M. Holers, C. Boileau, M-P. Debray, R. Porcher, D.A. Schwartz, R. Vassallo, B. Crestani and P. Dieudé. Methotrexate and rheumatoid arthritis associated interstitial lung disease. **Eur Respir J.** 2020, Jul 9:2000337. doi: 10.1183/13993003.00337-2020. Online ahead of print.

5. DISCUSSION

5.1. Identification d'un excès de mutations au sein de gènes liés à des formes familiales de fibrose pulmonaire dans une population de patients PR-PID : discussion des résultats et limites de l'étude

Ce travail constitue la première étude de séquençage d'exome réalisée chez des patients PR-PID. Nos résultats suggèrent l'implication dans la PR-PID des gènes liés aux FPF. Nous avons pu identifier des mutations au sein de gènes appartenant au complexe télomérase (*TERT*, *RTEL1* et *PARN*) et au sein de *SFTPC*, protéine du surfactant.

5.1.1. Discussion

5.1.1.1. *PR-PID et anomalies de télomères*

Il pourrait exister un lien entre diminution de la taille des télomères et PID dans un contexte auto-immun. En effet, la sénescence des cellules immunitaires (immunosénescence ou « immune aging ») entraîne des dysfonctions de l'immunité adaptative (diminution des cellules T naïves, augmentation des cellules T mémoires...) pouvant aboutir à la perte de la tolérance envers les autoantigènes et favoriser les maladies auto-immunes (141). Une anomalie des télomères est d'ailleurs observée dans les maladies auto-immunes telle que la PR. Ainsi, une méta-analyse incluant au total 388 patients PR mettait en évidence une taille plus courte des télomères chez ces patients que chez des individus témoins (-0,833 ; IC_{95%} : -1,332 – -0,334 ; *P*=0.001) (142). Dans cette méta-analyse, la taille courte des télomères était par ailleurs restreinte aux patients possédant au moins un allèle *HLA-DRB1*SE* (142).

L'origine et les conséquences du raccourcissement des télomères observé dans la PR sont actuellement inconnus. L'inflammation chronique et la dérégulation immunitaire liées à la

PR pourraient entraîner une diminution de la taille des télomères par prolifération excessive des cellules immunitaires mais plusieurs arguments sont également en faveur d'une anomalie constitutive de la taille des télomères dans la PR (143). D'une part, un raccourcissement des télomères est observé au sein de lymphocytes T CD4⁺ d'individus portant le *HLA-DRB1*SE* en dehors de la PR (144). D'autre part, aucune association entre taille des télomères et durée/activité de la PR n'a été mise en évidence, suggérant que l'inflammation liée à la PR n'est pas la seule cause à la réduction de la taille des télomères (145). La taille réduite des télomères observée chez les patients PR pourrait donc provenir d'une prédisposition favorisant l'immunosénescence ainsi que de l'emballement du système immunitaire lié à la maladie (Figure 18).

Enfin, le rs7726159 variant de *TERT*, a été associé au lupus érythémateux systémique suggérant son implication dans une autre maladie auto-immune (146, 147).

Figure 18. Hypothèse d'une séquence impliquant les anomalies des télomères dans l'émergence de maladies auto-immunes (d'après (143))

5.1.1.2. PR-PID et mutation de *SFTPC*

Nos résultats rapportent pour la première fois la présence de mutations de *SFTPC* chez des patients présentant une PR-PID. A notre connaissance, les mutations de *SFTPC* n'ont été associées et liées uniquement à des PID idiopathiques et familiales. *SFTPC* code pour la protéine C du surfactant (SP-C). SP-C mature est une petite protéine de 35 acides aminés (4,2 kDa) très conservée entre les différentes espèces, très hydrophobe, jouant un rôle primordial dans la stabilité du surfactant (148). SP-C est synthétisée à partir d'un précurseur de 21 kDa, la pro-protéine SP-C (proSP-C) qui subit des modifications post-traductionnelles (palmitoylation,

clivages protéiques...) tout au long de sa maturation intracellulaire dans les différents organites (Figure 19) (148). L'expression de SP-C n'a pour l'instant été mise en évidence que dans les cellules alvéolaires de type 2. Depuis 2001, de nombreuses mutations du gène *SFTPC* ont été identifiées comme associées à des PID pouvant survenir chez l'adulte ou chez l'enfant (149). Certaines de ces mutations entraînent une anomalie de maturation post-traductionnelle et une rétention de pro-SPC dans les organites responsables d'une augmentation du stress du réticulum endoplasmique et une souffrance cellulaire. D'autres mutations peuvent entraîner une anomalie d'adressage de la protéine avec une localisation intracellulaire aberrante.

Figure 19. Étapes de modifications post traductionnelles effectuées au niveau de différents organites cellulaires au sein d'une cellule alvéolaire de type 2 (d'après (148)). ER : Réticulum Endoplasmique, MVB : Corps Multivésiculaires, LB : corps lamellaires.

La première mutation de *SFTPC* identifiée dans notre étude, c.T218C ; p.I73T, est la mutation la plus fréquemment observée dans les PID liées à *SFTPC* (149). La seconde, c.G180G ; p.M60I, n'avait encore jamais été rapportée. Si les scores prédictifs utilisés étaient plutôt en faveur d'un impact fonctionnel délétère, celui-ci n'a pas pu être démontré. En effet, des données préliminaires mettaient en évidence une modification de la maturation de *SFTPC* p.M60I avec une localisation anormale, possiblement membranaire, similaire à *SFTPC* p.I73T mais ces résultats n'ont pu être confirmés.

Le lien entre *SFTPC* et PR-PID n'est pas encore élucidé. L'expression de SP-C au sein de l'articulation pourrait faire un lien entre mutation de *SFTPC*, pathologie pulmonaire interstitielle et articulaire. Cependant, contrairement à une récente étude, nous n'avons pu mettre en évidence la protéine SP-C au sein de membranes synoviales de patients atteints d'arthrose ou de PR (150). Une autre explication pourrait provenir de la souffrance cellulaire

causée par le stress du réticulum endoplasmique ou le mauvais adressage de SP-C liés aux mutations de *SFTPC*. Celle-ci pourrait favoriser la citrullination et la formation d'ACPA notamment chez les patients porteurs du *HLA-DRB1*SE*. Cette hypothèse reste à confirmer. La présence d'ACPA n'a par ailleurs pas été rapportée chez les cas de PID liées à des mutations de *SFTPC*.

5.1.2. Limites de l'étude

Si les résultats de cette première étude de séquençage d'exome suggèrent l'existence d'un fond génétique partagé entre PR-PID et FPI, certaines limites ne permettent pas de confirmer cette hypothèse.

Premièrement, la pathogénicité des mutations identifiées n'a pas été démontrée. Si l'utilisation de scores prédictifs et la modélisation 3D ont permis d'estimer l'impact fonctionnel de ces mutations, des explorations fonctionnelles *in vivo* ou *in vitro* par mutagenèse dirigée n'ont pas été réalisées.

Deuxièmement, l'absence de patients témoins intra-cas (*i.e.* patients PR-non PID) dans cette étude, ne permet pas l'identification formelle de FDR de survenue de PID au cours de la PR. Aussi, une contribution des mutations identifiées à la susceptibilité de la PR et non spécifiquement à la PR-PID ne peut être exclue.

5.2. Identification d'une association entre *MUC5B* rs35705950 et la PR-PID : discussion des résultats et limites de l'étude

5.2.1. Discussion des résultats

5.2.1.1. Association entre *MUC5B* rs35705950 et PR-PID

Notre étude rapporte une association entre l'allèle T de *MUC5B* rs35705950 et la PID au cours de la PR. La force de cette association (OR_{aj} combiné = 3,1 ; $IC_{95\%}$: 1,8 – 5,4 ; $P = 7,4 \times 10^{-5}$) est similaire à celle observée dans la FPI. Cette association est plus forte que celle observée pour les autres facteurs de risque de PR-PID précédemment identifiés tels que le tabac. *MUC5B* rs35705950 est donc un variant commun conférant un risque important de développer une PID au cours de la PR.

Il s'agit de la première association entre *MUC5B* rs35705950 et une CT-PID. En effet, des études précédentes n'observaient aucune association entre *MUC5B* rs35705950 et la PID associée à la sclérodermie systémique ou aux myosites auto-immunes (151, 152). Ces résultats ont depuis été confirmés dans une étude de Newton *et al.* observant une MAF de *MUC5B* rs35705950 de 34,6% dans une population de PR-PID, comparable à celle observée dans notre étude (153). Notre étude confirme la présence de facteurs de susceptibilité génétiques propres à la PR-PID la différenciant des autres CT-PID.

5.2.1.2. Association *MUC5B* rs35705950 et phénotype PIC de la PR-PID

L'association entre *MUC5B* rs35705950 et la PR-PID s'explique par la fréquence importante du phénotype PIC. Ainsi, notre étude observait une association restreinte au phénotype PR-PIC. Aussi, l'association de *MUC5B* rs35705950 avec la FPI et la PR-PIC, suggère que l'allèle rs35705950 T pourrait être un facteur de susceptibilité génétique de la PID de type

PIC quel que soit l'étiologie sous-jacente. Cette hypothèse semble confirmée par deux études récentes rapportant une association entre l'allèle T de *MUC5B* rs35705950 et vascularites à ANCA anti-MPO compliquées de PID et les pneumopathies d'hypersensibilité chronique, deux PID où le phénotype PIC est prépondérant (154, 155). Ainsi, l'absence d'association entre *MUC5B* rs35705950 et les CT-PID hors PR pourrait résulter d'une forte prévalence du phénotype PINS. Une analyse en sous-groupe en fonction de l'aspect scannographique de CT-PID, hors PR-PID (*i.e.* PIC vs non-PIC) pourrait permettre de tester cette hypothèse.

5.2.1.3. *Exploration d'une expression de Muc5b au sein de la membrane synoviale*

Afin d'explorer une potentielle implication de *MUC5B* au sein de l'articulation, nous avons recherché si *Muc5b* était exprimé dans le tissu synovial. Par une technique d'immunohistochimie, nous n'avons pu mettre en évidence la présence de *Muc5b* sur des coupes histologiques de membrane synoviales de patients PR et de témoins sains (données non publiées, Figure 20). Ces résultats suggèrent que *Muc5b* ne semble pas être impliqué dans la physiopathogénie de la synovite rhumatoïde.

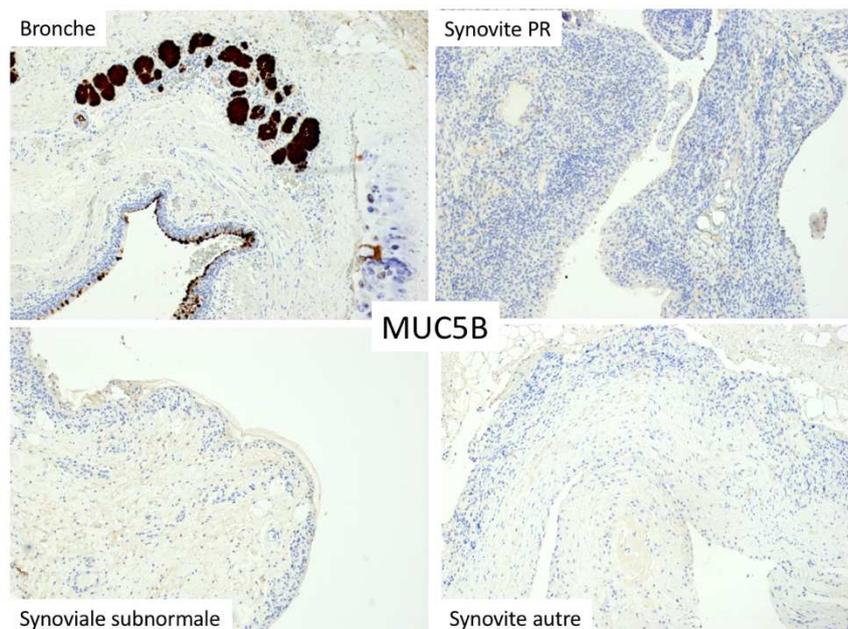


Figure 20. Immunohistochimie utilisant un anticorps ciblant MUC5B sur différentes coupes de membrane synoviale

Coupes histologiques d'un tissu pulmonaire (témoin positif) et de 3 membranes synoviales (une synovite d'un patient PR, une membrane synoviale subnormale et une synovite non-PR). Le marquage de Muc5b apparaît en brun.

5.2.1.4. PR-PID et autres variants associés à la FPI

Dans notre étude exploratoire, deux autres facteurs de risque de la FPI, *TOLLIP* rs5743890 et *IVD* rs2034650 étaient également associés à la PR-PID. L'étude de SNPs ayant un faible effet (faible magnitude du signal d'association) requière de grandes tailles d'échantillons afin de garantir une puissance de détection acceptable (Juge *et al*, NEJM, 2018, Table S9). Dans l'étude de Newton *et al.*, les auteurs observent une fréquence de l'allèle mineure de *TOLLIP* rs5743890 similaire dans leur population de PR-PID (n=62) que celle rapportée dans notre publication (20,5% dans l'article de Newton *et al*, 21,5% dans notre population française, 16,7% dans la population américaine et 10,0% dans la population mexicaine) (153). Probablement par manque de puissance, les auteurs ne mettent pas en évidence de différence statistiquement

significative ($P = 0,72$) (153). De nouvelles études avec un nombre plus important de patients inclus sont donc nécessaires pour répliquer nos résultats.

5.2.2. Limites de l'étude

Si notre étude confirme l'association entre *MUC5B* rs35705950 et la PR-PID, nous n'avons pu démontrer l'impact fonctionnel de ce variant. En effet, Si l'allèle à risque T de *MUC5B* rs35705950 a été associée à une augmentation de l'expression de Muc5b chez des individus sains et chez des patients présentant une FPI (110), les mécanismes à l'origine de cette surexpression ne sont pas établis. rs35705950 pourrait modifier une séquence cis-régulatrice (enhancer) de la région promotrice, influençant la transcription de *MUC5B*. Cette hypothèse est soutenue par i) la mise en évidence d'une régulation de l'expression de Muc5b par le facteur de transcription XBP1S et ii) *MUC5B* rs35705950 influence la régulation dépendante de XBP1S (130). Toutefois, *MUC5B* rs35705950 n'étant pas situé dans l'enhancer de XBP1S mais à proximité, son mode d'action reste à déterminer et n'exclue pas un second variant en déséquilibre de liaison situé dans l'enhancer (130).

Une limite importante de notre étude est l'absence d'analyse en composantes principales. En effet, l'origine ethnique des patients inclus dans cette étude était collectée de manière déclarative n'excluant pas formellement un biais de stratification. Toutefois, i) la concordance des MAF dans chaque population témoin étudiée avec celles des bases données, ii) la reproductibilité du signal d'association dans l'ensemble des populations testées, à l'exception des populations asiatiques et iii) un signal de même direction et magnitude pour chaque population renforce la robustesse de nos résultats

5.3. Influence du méthotrexate sur la survenue d'une PID au cours de la PR : discussion des résultats et limites de l'étude

5.3.1. Discussion des résultats

5.3.1.1. *Identification d'une association inverse entre l'absence d'exposition au MTX et survenue d'une PR-PID*

Dans ce dernier travail, nous avons mis en évidence une association inverse entre l'exposition au MTX et la survenue d'une PID au cours de la PR, excluant le MTX comme facteur de risque de PR-PID. Ces résultats suggèrent que le MTX pourrait être un facteur protecteur de PR-PID. Cette observation serait en accord avec la récente étude de cohorte anglaise et une étude danoise récemment présentée au congrès de l'EULAR 2020 (39, 156). L'effet protecteur du MTX pourrait provenir d'un effet immunomodulateur direct du MTX dirigé sur le poumon comme ce qui est observé dans d'autres maladies inflammatoires comme la sarcoïdose (157) ou d'un effet indirect passant par l'action du MTX sur le contrôle de l'activité de la PR, facteur de risque établi de survenue de PID. Toutefois, dans notre étude, l'exposition par un traitement biologique n'était pas associée à une diminution du risque de survenue de PR-PID ce qui ne conforte pas la deuxième hypothèse.

Compte-tenu du caractère rétrospectif de notre étude, l'association inverse observée entre exposition au MTX et risque de PR-PID doit être interprétée avec précaution. De plus, notre étude a identifié une association statistique qui n'est pas synonyme de relation de causalité. L'effet protecteur du MTX ne pourra être confirmé qu'à l'aide d'un essai prospectif, randomisé et contrôlé.

5.3.1.2. MTX, risque de PR-PID et *MUC5B* rs35705950

Nous avons également exploré l'impact du MTX sur le risque de survenue de PR-PID en fonction du statut génotypique de *MUC5B* rs35705950 dans les populations françaises, américaines et mexicaines (174 PR-PID et 222 PR-non PID). Pour ce faire, nous avons considéré l'absence d'exposition au MTX et l'allèle à risque T de *MUC5B* rs35705950 comme facteurs de risque de survenue d'une PID au cours de la PR et nous avons recherché une possible interaction gène-environnement. La présence d'une interaction a été analysée par régression logistique avec échantillonnage aléatoire. Après ajustement sur l'âge au diagnostic de la PR, le sexe, le tabagisme, le centre d'inclusion, l'exposition aux biothérapies, la durée d'exposition au MTX considérée et l'année de diagnostic de PR (afin d'ajuster sur les recommandations concernant l'utilisation du MTX dans la PR lors du diagnostic de PR), un risque plus faible de survenue de PID était observée chez les patients exposés au MTX quel que soit le génotype de *MUC5B* rs35705950 (OR = 0,43 ; IC_{95%} : 0,19 – 0,97 ; *P* = 0,042 chez les patients non porteurs de l'allèle à risque vs OR = 0,43 ; IC_{95%} : 0,13 – 1,43 ; *P* = 0,17 chez les patients porteurs de l'allèle à risque. Si aucune interaction n'était observée entre l'exposition au MTX et le génotype de *MUC5B* rs35705950 (*P* = 0,99) (Figure 21), l'association inverse avec l'exposition au MTX était également observée chez les patients porteurs de l'allèle à risque.

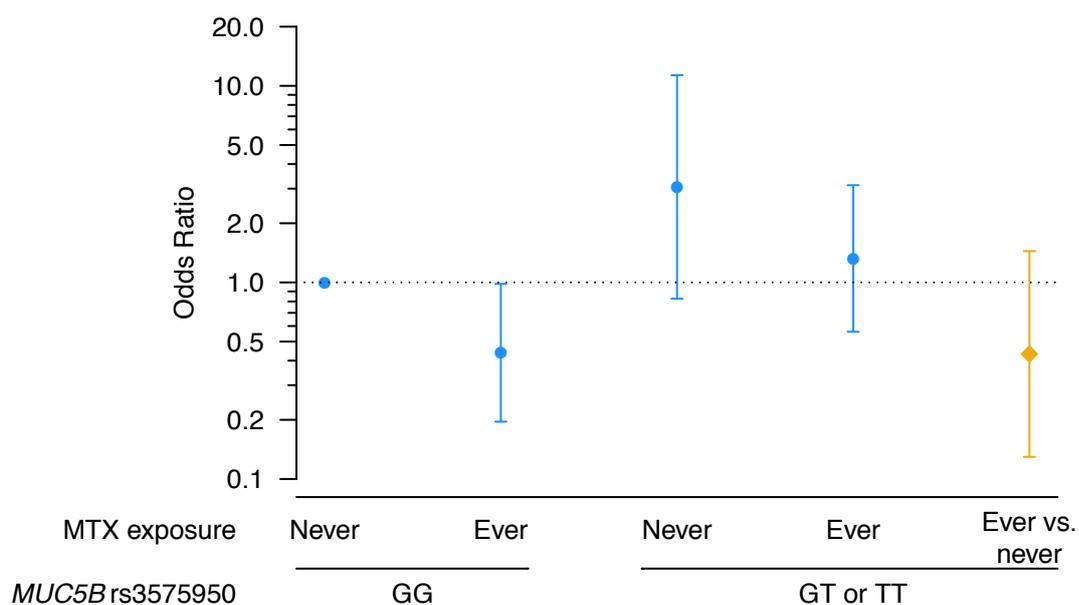


Figure 21. Effets combinés de l'exposition au MTX et du génotype *MUC5B* rs35705950 sur le risque de développement d'une PID au cours de la PR.

Les points bleus représentent les OR avec leur IC_{95%} en comparaison à l'absence d'exposition au MTX + absence d'allèle à risque de *MUC5B* rs35705950 (génotype GG). Le point jaune donne l'OR de la comparaison exposition vs non-exposition au MTX chez les patients porteurs de l'allèle à risque de *MUC5B* rs35705950 (génotype GT ou TT).

5.3.2. Limites de l'étude

Notre étude comporte certaines limites liées à sa méthodologie statistique et son design rétrospectif. Les biais induits par le caractère rétrospectif ont été discutés dans l'article. Malgré la prise en compte dans l'analyse multivariée de certains biais potentiels comme facteurs d'ajustement, il est possible que d'autres biais soient responsables de l'association observée. Un biais de prescription est notamment envisageable chez des patients à risque de développer une PR-PID. Toutefois, la force du signal observé ainsi que sa reproductibilité dans chaque population étudiée sont des arguments qui confortent nos résultats.

5.4. Impact thérapeutique

5.4.1. Utilisation des médicaments spécifiques de la FPI dans la PR-PID

Les résultats de nos deux premières études sont en faveur d'une architecture génétique commune partagée entre FPI et PR-PID, suggérant des mécanismes physiopathogéniques communs notamment pour la PR-PIC. Actuellement, deux molécules sont disponibles dans la FPI, la pirfénidone, un anti-TGF β , et le nintedanib, un inhibiteur de tyrosine kinase (158, 159). Ces deux molécules ont montré un effet bénéfique en ralentissant la dégradation de la fonction pulmonaire dans la FPI. Aux vues de nos résultats, l'utilisation de ces traitements pourraient être étudiée dans la PR-PID notamment aux patients présentant une PID fibrosante.

L'efficacité du nintedanib a été étudié dans la sclérodemie systémique dans l'étude SENSICIS. Celle-ci a montré une possible efficacité du nintedanib sur l'atteinte pulmonaire (160). Toutefois, l'effet était bien plus modeste que celui observé dans la FPI et aucun effet n'était observé sur les atteintes extra-pulmonaires.

Depuis la publication de nos résultats, l'étude randomisée contrôlée INBUILD a exploré l'efficacité du nintedanib chez des patients présentant une PID fibrosante progressive en échec thérapeutique (161). Dans cette étude, le nintedanib était efficace avec un ralentissement de la dégradation de la CVF semblable à celui observé dans la FPI (différence de 107,0mL/an comparé au placebo ; IC_{95%} : 65,4 – 148,5 ; $P < 0,001$). Cet effet était observé quel que soit l'aspect scannographique (PIC ou non PIC). Sur les 663 patients inclus dans INBUILD, 77 présentaient une PR-PID (161). Le nintedanib était également efficace dans la sous-analyse du groupe maladie auto-immune (différence de 104,0mL/an comparé au placebo ; IC_{95%} : 21,1 – 186,9) (162). La sous-analyse dans le groupe PR-PID a été présentée à l'EULAR 2020 et mettait en évidence une différence de 117,9 mL/an comparé au placebo ; IC_{95%} : 5,2 – 230,7. Aux vues

de ces résultats, la Food and Drug Administration a autorisé l'utilisation du nintedanib chez les patients atteints de PID fibrosantes progressives. Toutefois, le faible nombre de patients PR-PID inclus dans cette étude limite la puissance de l'analyse et l'interprétation des résultats dans cette population spécifique. Concernant la pirféridone, l'étude TRAIL incluant spécifiquement des patients PR-PID est en cours (NCT02808871).

5.4.2. MTX et risque de PR-PID

Le MTX, pierre angulaire du traitement de la PR, a longtemps été soupçonné de favoriser la survenue de la PR-PID, probablement du fait d'une confusion entre pneumopathie d'hypersensibilité au MTX et PR-PID. Nos résultats excluent le MTX comme facteur de risque de survenue d'une PR-PID. Toutefois, l'impact du MTX sur l'évolution de la PID reste inconnu. Dans notre étude, une exposition par MTX était associée à un retard de détection de la PID chez les patients présentant une PR-PID, suggérant un possible effet modulateur direct ou indirect du MTX sur la PR-PID. Si nos résultats ne permettent pas de conclure sur l'impact du MTX sur une PR-PID acquise, un traitement par MTX ne devrait pas être systématiquement arrêté en cas de découverte d'une PR-PID. Cette décision devrait faire l'objet d'une réunion multidisciplinaire (rhumatologues, pneumologues, radiologues).

6. CONCLUSION

La PR-PID est une maladie complexe (favorisée par des facteurs de risque génétiques et environnementaux).

L'hypothèse d'un fond génétique commun entre FPI et PR-PID est suggérée par l'excès de mutations dans des gènes impliqués dans la maintenance des télomères (*PARN*, *RTEL1* et *TERT*) ou l'homéostasie du surfactant (*SFTPC*) chez des patients PR-PID et confirmée par la mise en évidence de la contribution du principal facteur de risque de la FPI, *MUC5B* rs35705950, au risque de PID au cours de la PR. La suggestion d'association des variants *TOLLIP* rs5743890 et *IVD* rs2034650 avec la PR-PID conforte cette hypothèse (Figure 22).

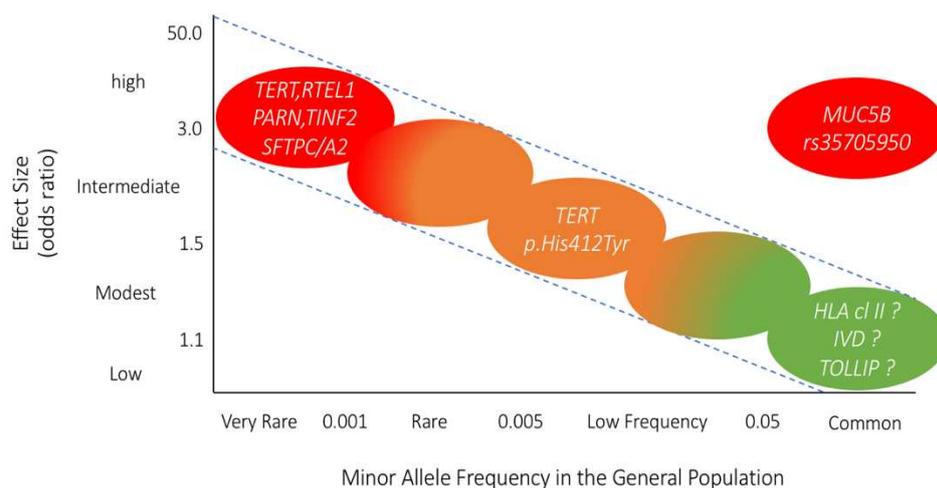


Figure 22. Schéma représentant l'architecture génétique de la PR-PID (d'après (1))

Si la composante environnementale du déterminisme de la PR-PID inclue le tabac, le rôle des traitements spécifiques de la PR reste inconnu. L'exposition au MTX ne confère pas de sur-risque de développer une PR-PID et pourrait même avoir un effet protecteur qu'il faudra confirmer à l'aide d'études prospectives contrôlées. (Figure 23).

Figure 23. Mécanismes physiopathologiques impliqués dans la survenue d'une PR-PID

L'identification des facteurs de risque génétiques et environnementaux associés à la PR-PID a plusieurs objectifs : *i)* une meilleure compréhension des mécanismes physiopathologiques qui sous-tendent l'émergence du phénotype pulmonaire , *ii)* l'identification de voies physiopathogéniques communes entre FPI et PR-PID (PR-PIC) suggérant un possible intérêt des traitement spécifiques de la FPI dans l'indication PR-PID, *iii)* l'identification de biomarqueurs permettant une meilleure stratification des patients à risque

7. PERSPECTIVES

7.1. Mieux définir l'architecture génétique de la PR-PID

7.1.1. Comparaison des données de séquençage d'exome d'une population PR-PID et PR-non PID

Dans notre première étude, nous avons mis en évidence un excès de mutation dans les gènes liés à la FPI dans une population de PR-PID. L'absence de groupe de témoins intra-cas de patients PR-non PID limite les conclusions de cette étude. La génération de données de séquençage d'exome de 244 patients PR-non PID est en cours et nous permettra de comparer la fréquence des mutations retrouvées dans les gènes d'intérêts entre la population PR-PID et PR-non PID.

7.1.2. Réalisation d'un GWAS comparant PR-PID et PR-non PID

Afin d'identifier les variants communs associés spécifiquement à la PR-PID, la réalisation d'un GWAS semble nécessaire. L'inclusion d'un nombre important de patients en limite la faisabilité mais les différentes collaborations internationales pourraient, à terme, aboutir à la réalisation d'une étude d'une telle envergure. Nous pourrions ainsi confirmer l'association des variants *TOLLIP* rs5743890 et *IVD* rs2034650 à la PR-PID

7.1.3. Étude de la taille des télomères

Comme dans la FPI, une partie des mécanismes favorisant la PR-PID impliquent *MUC5B* rs35705950. L'analyse de la taille des télomères notamment chez les patients PR-PID non porteurs de l'allèle à risque de *MUC5B* rs35705950 semble particulièrement intéressant. Une

taille des télomères plus courte observée chez ces patients confirmerait la participation à la PR-PID de gènes impliqués dans la maintenance des télomères, comme dans la FPI. L'absence de différence suggèrerait la participation d'autres mécanismes en partie différents de la FPI. Ce travail fait l'objet d'une collaboration avec l'équipe du Dr David Schwartz (University of Colorado, School of Medicine, Aurora, USA) en cours de réalisation.

7.1.4. Étude de familles d'intérêt

L'analyse de familles où coségrègent PR, FPI et PR-PID sur plusieurs générations est propice à la découverte de nouveaux gènes impliqués dans la physiopathogénie de la PR-PID. Une telle famille a été identifiée en Guadeloupe et est en cours d'analyse.

7.2. *MUC5B* rs35705950 comme facteur pronostique et marqueur diagnostique

7.2.1. Analyse de la survie en fonction de *MUC5B* rs35705950

Une meilleure survie a été rapportée chez les patients FPI porteurs de l'allèle à risque de *MUC5B* rs35705950 (163). Ces résultats laissent supposer que les patients présentant une FPI non associée à *MUC5B* rs35705950 porteraient des facteurs génétiques de moins bon pronostic comme des mutations au sein des gènes impliqués dans les téloméropathies. Ceci a été confirmé par une étude qui observait plus de variants rares au sein des gènes *TERT*, *PARN*, *TERC* et *RTEL1* chez les patients FPI non porteurs de l'allèle à risque de *MUC5B* rs35705950 (164). L'impact de *MUC5B* rs35705950 sur le pronostic de la PR-PID a été étudié dans l'étude de Newton *et al.* Les auteurs ont analysé l'influence de *MUC5B* rs35705950 sur le pronostic des PID associées à différentes maladies auto-immunes (62 PR-PID, 74 PID associée à la sclérodémie systémique, 112 autres maladies auto-immunes) (153). Aucune différence

d'évolution de CVF n'était observée en fonction du génotype mais, à l'inverse de ce qui a été rapporté dans la FPI, *MUC5B* rs35705950 était associé à une moins bonne survie chez les patients présentant une CT-PID. Ces résultats suggéraient que les facteurs impactant l'évolution des CT-PID et celle des FPI seraient différents. Cependant, l'analyse en sous-groupe (type de maladie auto-immune ou type de PID) n'a pas été effectuée et l'influence réelle de *MUC5B* rs35705950 sur la PR-PID reste inconnue. L'analyse de l'évolution des EFR en fonction de *MUC5B* rs35705950 est actuellement en cours d'analyse.

7.2.2. L'intérêt du génotypage de *MUC5B* rs35705950 comme marqueur prédictif de survenue de PID au cours de la PR

MUC5B rs35705950 est un variant commun conférant un risque important de développer une PR-PID. Le risque de développer une PID chez un patient PR porteur de l'allèle à risque est multiplié par 3,1. Cependant son intérêt comme marqueur prédictif de survenue d'une PID à un stade infra-clinique par étude d'une cohorte reste à déterminer. La réalisation d'un TDM thoracique lors du suivi à 13 ans chez 175 patients de la cohorte ESPOIR nous a permis d'identifier 31 PID infra-cliniques. L'analyse des données du génotypage de *MUC5B* rs35705950 est en cours.

7.3. Meilleure compréhension du mécanisme expliquant l'impact fonctionnel de *MUC5B* rs35705950

Comme énoncé dans l'introduction, le variant rs35705950 est situé dans la région promotrice de *MUC5B* et l'allèle à risque T est associé à une augmentation de l'expression de Muc5b. Si il a été montré que cette modification de l'expression de Muc5b passait par la fixation

d'un facteur de transcription XBP1S, rs35705950 n'est pas situé au sein de l'enhancer de XBP1S mais à proximité. Une des hypothèses serait l'existence d'un second variant en déséquilibre de liaison avec rs35705950 situé dans l'enhancer. Afin de vérifier cette hypothèse, nous souhaitons génotyper chez plusieurs individus la région du promoteur de MUC5B où se situe l'enhancer de XBP1S et vérifier la présence d'un variant en fort déséquilibre de liaison avec rs35705950. Le génotypage est en cours.

8. REFERENCES

1. Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, Goldstein DB, Hindorff LA, Hunter DJ, et al. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature*. 2009;461(7265):747-53.
2. Stolt P, Bengtsson C, Nordmark B, Lindblad S, Lundberg I, Klareskog L, et al. Quantification of the influence of cigarette smoking on rheumatoid arthritis: results from a population based case-control study, using incident cases. *Ann Rheum Dis*. 2003;62(9):835-41.
3. Lundstrom E, Kallberg H, Alfredsson L, Klareskog L, Padyukov L. Gene-environment interaction between the DRB1 shared epitope and smoking in the risk of anti-citrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis: all alleles are important. *Arthritis Rheum*. 2009;60(6):1597-603.
4. McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*. 2011;365(23):2205-19.
5. Cavagna L, Monti S, Grosso V, Boffini N, Scorletti E, Crepaldi G, et al. The multifaceted aspects of interstitial lung disease in rheumatoid arthritis. *Biomed Res Int*. 2013;2013:759760.
6. de Lauretis A, Veeraraghavan 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(1):53-82.
7. Gabbay E, Tarala R, Will R, Carroll G, Adler B, Cameron D, et al. Interstitial lung disease in recent onset rheumatoid arthritis. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997;156(2 Pt 1):528-35.
8. Carmona L, Gonzalez-Alvaro I, Balsa A, Angel Belmonte M, Tena X, Sanmarti R. Rheumatoid arthritis in Spain: occurrence of extra-articular manifestations and estimates of disease severity. *Ann Rheum Dis*. 2003;62(9):897-900.
9. Turesson C, O'Fallon WM, Crowson CS, Gabriel SE, Matteson EL. Extra-articular disease manifestations in rheumatoid arthritis: incidence trends and risk factors over 46 years. *Ann Rheum Dis*. 2003;62(8):722-7.
10. Habib HM, Eisa AA, Arafat WR, Marie MA. Pulmonary involvement in early rheumatoid arthritis patients. *Clin Rheumatol*. 2011;30(2):217-21.
11. Koduri G, Norton S, Young A, Cox N, Davies P, Devlin J, et al. Interstitial lung disease has a poor prognosis in rheumatoid arthritis: results from an inception cohort. *Rheumatology (Oxford)*. 2010;49(8):1483-9.
12. 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(6):983-9.
13. 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(9):1670-5.
14. Spagnolo P, Lee JS, Sverzellati N, Rossi G, Cottin V. The Lung in Rheumatoid Arthritis: Focus on Interstitial Lung Disease. *Arthritis Rheumatol*. 2018.
15. Rabeyrin M, Lantuejoul S. [Histopathology of idiopathic diffuse interstitial lung diseases]. *Presse Med*. 2010;39(1):61-72.
16. Kim EJ, Collard HR, King TE, Jr. Rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease: the relevance of histopathologic and radiographic pattern. *Chest*. 2009;136(5):1397-405.
17. Kim DS. Interstitial lung disease in rheumatoid arthritis: recent advances. *Curr Opin Pulm Med*. 2006;12(5):346-53.

18. Hallowell RW, Danoff SK. Interstitial lung disease associated with the idiopathic inflammatory myopathies and the antisynthetase syndrome: recent advances. *Curr Opin Rheumatol*. 2014;26(6):684-9.
19. Fujita J, Yoshinouchi T, Ohtsuki Y, Tokuda M, Yang Y, Yamadori I, et al. Non-specific interstitial pneumonia as pulmonary involvement of systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2001;60(3):281-3.
20. Bouros D, Wells AU, Nicholson AG, Colby TV, Polychronopoulos V, Pantelidis P, et al. Histopathologic subsets of fibrosing alveolitis in patients with systemic sclerosis and their relationship to outcome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165(12):1581-6.
21. Cottin V, Thivolet-Bejui F, Reynaud-Gaubert M, Cadranet J, Delaval P, Ternamian PJ, et al. Interstitial lung disease in amyopathic dermatomyositis, dermatomyositis and polymyositis. *Eur Respir J*. 2003;22(2):245-50.
22. Nurmi HM, Kettunen HP, Suoranta SK, Purokivi MK, Karkkainen MS, Selander TA, et al. Several high-resolution computed tomography findings associate with survival and clinical features in rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease. *Respir Med*. 2018;134:24-30.
23. Bongartz T, Nannini C, Medina-Velasquez YF, Achenbach SJ, Crowson CS, Ryu JH, et al. Incidence and mortality of interstitial lung disease in rheumatoid arthritis: a population-based study. *Arthritis Rheum*. 2010;62(6):1583-91.
24. Saag KG, Kolluri S, Koehnke RK, Georgou TA, Rachow JW, Hunninghake GW, et al. Rheumatoid arthritis lung disease. Determinants of radiographic and physiologic abnormalities. *Arthritis Rheum*. 1996;39(10):1711-9.
25. Kelly CA, Saravanan V, Nisar M, Arthanari S, Woodhead FA, Price-Forbes AN, 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(9):1676-82.
26. Ytterberg AJ, Joshua V, Reynisdottir G, Tarasova NK, Rutishauser D, Ossipova E, et al. Shared immunological targets in the lungs and joints of patients with rheumatoid arthritis: identification and validation. *Ann Rheum Dis*. 2015;74(9):1772-7.
27. 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(7):1282-9.
28. Restrepo JF, del Rincon 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(9):1529-36.
29. Giles JT, Danoff SK, Sokolove J, Wagner CA, Winchester R, Pappas DA, 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(8):1487-94.
30. Park WH, Kim SS, Shim SC, Song ST, Jung SS, Kim JH, et al. Visual Assessment of Chest Computed Tomography Findings in Anti-cyclic Citrullinated Peptide Antibody Positive Rheumatoid Arthritis: Is it Associated with Airway Abnormalities? *Lung*. 2016;194(1):97-105.
31. Alunno A, Bistoni O, Pratesi F, La Paglia GMC, Puxeddu I, Migliorini P, et al. Anti-citrullinated alpha enolase antibodies, interstitial lung disease and bone erosion in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2018;57(5):850-5.
32. Perez-Dorame R, Mejia M, Mateos-Toledo H, Rojas-Serrano J. Rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease: lung inflammation evaluated with high resolution computed

tomography scan is correlated to rheumatoid arthritis disease activity. *Reumatol Clin*. 2015;11(1):12-6.

33. Paulin F, Mercado JF, Fernandez ME, Caro FM, Alberti ML, Fassola LA. Correlation between Lung and Joint Involvement in Patients with Rheumatoid Arthritis and Interstitial Lung Disease: A Cross-Sectional Study. *Rev Invest Clin*. 2018;70(2):76-81.

34. Sparks JA, He X, Huang J, Fletcher EA, Zaccardelli A, Friedlander HM, et al. Rheumatoid Arthritis Disease Activity Predicting Incident Clinically Apparent Rheumatoid Arthritis-Associated Interstitial Lung Disease: A Prospective Cohort Study. *Arthritis Rheumatol*. 2019;71(9):1472-82.

35. Sathi N, Chikura B, Kaushik VV, Wiswell R, Dawson JK. How common is methotrexate pneumonitis? A large prospective study investigates. *Clin Rheumatol*. 2012;31(1):79-83.

36. Conway R, Carey JJ. Methotrexate and lung disease in rheumatoid arthritis. *Panminerva Med*. 2017;59(1):33-46.

37. Fragoulis GE, Conway R, Nikiphorou E. Methotrexate and interstitial lung disease: controversies and questions. A narrative review of the literature. *Rheumatology (Oxford)*. 2019;58(11):1900-6.

38. Conway R, Low C, Coughlan RJ, O'Donnell MJ, Carey JJ. Methotrexate use and risk of lung disease in psoriasis, psoriatic arthritis, and inflammatory bowel disease: systematic literature review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ*. 2015;350:h1269.

39. Kiely P, Busby AD, Nikiphorou E, Sullivan K, Walsh DA, Creamer P, et al. Is incident rheumatoid arthritis interstitial lung disease associated with methotrexate treatment? Results from a multivariate analysis in the ERAS and ERAN inception cohorts. *BMJ Open*. 2019;9(5):e028466.

40. Sebastiani M, Manfredi A, Cerri S, Della Casa G, Luppi F, Ferri C. Radiologic classification of usual interstitial pneumonia in rheumatoid arthritis-related interstitial lung disease: correlations with clinical, serological and demographic features of disease. *Clin Exp Rheumatol*. 2016;34(3):564-5.

41. Rojas-Serrano J, Herrera-Bringas D, Perez-Roman DI, Perez-Dorame R, Mateos-Toledo H, Mejia M. Rheumatoid arthritis-related interstitial lung disease (RA-ILD): methotrexate and the severity of lung disease are associated to prognosis. *Clin Rheumatol*. 2017;36(7):1493-500.

42. Perez-Alvarez R, Perez-de-Lis M, Diaz-Lagares C, Pego-Reigosa JM, Retamozo S, Bove A, et al. Interstitial lung disease induced or exacerbated by TNF-targeted therapies: analysis of 122 cases. *Semin Arthritis Rheum*. 2011;41(2):256-64.

43. Nakashita T, Ando K, Kaneko N, Takahashi K, Motojima S. Potential risk of TNF inhibitors on the progression of interstitial lung disease in patients with rheumatoid arthritis. *BMJ Open*. 2014;4(8):e005615.

44. Takeuchi T, Tatsuki Y, Nogami Y, Ishiguro N, Tanaka Y, Yamanaka H, et al. Postmarketing surveillance of the safety profile of infliximab in 5000 Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2008;67(2):189-94.

45. Theander L, Nyhall-Wahlin BM, Nilsson JA, Willim M, Jacobsson LTH, Petersson IF, et al. Severe Extraarticular Manifestations in a Community-based Cohort of Patients with Rheumatoid Arthritis: Risk Factors and Incidence in Relation to Treatment with Tumor Necrosis Factor Inhibitors. *J Rheumatol*. 2017;44(7):981-7.

46. Herrinton LJ, Harrold LR, Liu L, Raebel MA, Taharka A, Winthrop KL, et al. Association between anti-TNF-alpha therapy and interstitial lung disease. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*. 2013;22(4):394-402.

47. Liote H, Cadranel J, Liote F. Rituximab-induced pneumonitis: steroid therapy or not? *Pediatr Pulmonol*. 2010;45(4):412-3; author reply 4-6.
48. Ergin AB, Fong N, Daw HA. Rituximab-induced bronchiolitis obliterans organizing pneumonia. *Case Rep Med*. 2012;2012:680431.
49. Lee HK, Kim DS, Yoo B, Seo JB, Rho JY, Colby TV, et al. Histopathologic pattern and clinical features of rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease. *Chest*. 2005;127(6):2019-27.
50. 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(3):344-50.
51. Metafratzi ZM, Georgiadis AN, Ioannidou CV, Alamanos Y, Vassiliou MP, Zikou AK, et al. Pulmonary involvement in patients with early rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*. 2007;36(5):338-44.
52. Olson AL, Swigris JJ, Sprunger DB, Fischer A, Fernandez-Perez ER, Solomon J, et al. Rheumatoid arthritis-interstitial lung disease-associated mortality. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;183(3):372-8.
53. Gochuico BR, Avila NA, Chow CK, Novero LJ, Wu HP, Ren P, et al. Progressive preclinical interstitial lung disease in rheumatoid arthritis. *Arch Intern Med*. 2008;168(2):159-66.
54. Solomon JJ, Chung JH, Cosgrove GP, Demoruelle MK, Fernandez-Perez ER, Fischer A, et al. Predictors of mortality in rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease. *Eur Respir J*. 2016;47(2):588-96.
55. Hyldgaard C, Ellingsen T, Hilberg O, Bendstrup E. Rheumatoid Arthritis-Associated Interstitial Lung Disease: Clinical Characteristics and Predictors of Mortality. *Respiration*. 2019;98(5):455-60.
56. 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(4):493-500.
57. Yunt ZX, Chung JH, Hobbs S, Fernandez-Perez ER, Olson AL, Huie TJ, 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.
58. Kim EJ, Elicker BM, Maldonado F, Webb WR, Ryu JH, Van Uden JH, et al. Usual interstitial pneumonia in rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease. *Eur Respir J*. 2010;35(6):1322-8.
59. Jacob J, Hirani N, van Moorsel CHM, Rajagopalan S, Murchison JT, van Es HW, et al. Predicting outcomes in rheumatoid arthritis related interstitial lung disease. *Eur Respir J*. 2019;53(1).
60. Raghu G, Depaso WJ, Cain K, Hammar SP, Wetzel CE, Dreis DF, et al. Azathioprine combined with prednisone in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis: a prospective double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial. *Am Rev Respir Dis*. 1991;144(2):291-6.
61. Tashkin DP, Elashoff R, Clements PJ, Goldin J, Roth MD, Furst DE, et al. Cyclophosphamide versus placebo in scleroderma lung disease. *N Engl J Med*. 2006;354(25):2655-66.
62. Fu Q, Wang L, Li L, Li Y, Liu R, Zheng Y. Risk factors for progression and prognosis of rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease: single center study with a large sample of Chinese population. *Clin Rheumatol*. 2019;38(4):1109-16.
63. Li L, Liu R, Zhang Y, Zhou J, Li Y, Xu Y, et al. A retrospective study on the predictive implications of clinical characteristics and therapeutic management in patients with rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease. *Clin Rheumatol*. 2020;39(5):1457-70.

64. Dawson JK, Graham DR, Desmond J, Fewins HE, Lynch MP. Investigation of the chronic pulmonary effects of low-dose oral methotrexate in patients with rheumatoid arthritis: a prospective study incorporating HRCT scanning and pulmonary function tests. *Rheumatology (Oxford)*. 2002;41(3):262-7.
65. Kawano-Dourado L, Doyle TJ, Bonfiglioli K, Sawamura MVY, Nakagawa RH, Arimura FE, et al. Baseline Characteristics and Progression of a Spectrum of Interstitial Lung Abnormalities and Disease in Rheumatoid Arthritis. *Chest*. 2020.
66. Koo BS, Hong S, Kim YJ, Kim YG, Lee CK, Yoo B. Mortality in patients with rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease treated with an anti-tumor necrosis factor agent. *Korean J Intern Med*. 2015;30(1):104-9.
67. Md Yusof MY, Kabia A, Darby M, Lettieri G, Beirne P, Vital EM, et al. Effect of rituximab on the progression of rheumatoid arthritis-related interstitial lung disease: 10 years' experience at a single centre. *Rheumatology (Oxford)*. 2017;56(8):1348-57.
68. Druce KL, Iqbal K, Watson KD, Symmons DPM, Hyrich KL, Kelly C. Mortality in patients with interstitial lung disease treated with rituximab or TNFi as a first biologic. *RMD Open*. 2017;3(1):e000473.
69. Fernandez-Diaz C, Loricera J, Castaneda S, Lopez-Mejias R, Ojeda-Garcia C, Olive A, et al. Abatacept in patients with rheumatoid arthritis and interstitial lung disease: A national multicenter study of 63 patients. *Semin Arthritis Rheum*. 2018.
70. Holroyd CR, Seth R, Bukhari M, Malaviya A, Holmes C, Curtis E, et al. The British Society for Rheumatology biologic DMARD safety guidelines in inflammatory arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2019;58(2):372.
71. Balsa-Criado A. Guía de Práctica Clínica para el Manejo de los Pacientes con Artritis Reumatoide, actualización 2019. <https://www.serres/wp-content/uploads/2019/03/Guia-de-Practica-Clinica-para-el-Manejo-de-Pacientes-con-Artritis-Reumatoidepdf>.
72. Krishnamurthy A, Joshua V, Haj Hensvold A, Jin T, Sun M, Vivar N, et al. Identification of a novel chemokine-dependent molecular mechanism underlying rheumatoid arthritis-associated autoantibody-mediated bone loss. *Ann Rheum Dis*. 2016;75(4):721-9.
73. Catrina AI, Svensson CI, Malmstrom V, Schett G, Klareskog L. Mechanisms leading from systemic autoimmunity to joint-specific disease in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2017;13(2):79-86.
74. Klareskog L, Malmstrom V, Lundberg K, Padyukov L, Alfredsson L. Smoking, citrullination and genetic variability in the immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Semin Immunol*. 2011;23(2):92-8.
75. Too CL, Muhamad NA, Ilar A, Padyukov L, Alfredsson L, Klareskog L, et al. Occupational exposure to textile dust increases the risk of rheumatoid arthritis: results from a Malaysian population-based case-control study. *Ann Rheum Dis*. 2016;75(6):997-1002.
76. Stolt P, Kallberg H, Lundberg I, Sjogren B, Klareskog L, Alfredsson L, et al. Silica exposure is associated with increased risk of developing rheumatoid arthritis: results from the Swedish EIRA study. *Ann Rheum Dis*. 2005;64(4):582-6.
77. Chiang YC, Yen YH, Chang WC, Cheng KJ, Chang WP, Chen HY. The association between urbanization and rheumatoid arthritis in Taiwan. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2016;54(1):1-10.
78. Hart JE, Laden F, Puett RC, Costenbader KH, Karlson EW. Exposure to traffic pollution and increased risk of rheumatoid arthritis. *Environ Health Perspect*. 2009;117(7):1065-9.
79. Nielen MM, van Schaardenburg D, Reesink HW, van de Stadt RJ, van der Horst-Bruinsma IE, de Koning MH, et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum*. 2004;50(2):380-6.

80. Kurki P, Aho K, Palosuo T, Heliovaara M. Immunopathology of rheumatoid arthritis. Antikeratin antibodies precede the clinical disease. *Arthritis Rheum.* 1992;35(8):914-7.
81. Kokkonen H, Mullazehi M, Berglin E, Hallmans G, Wadell G, Ronnelid J, et al. Antibodies of IgG, IgA and IgM isotypes against cyclic citrullinated peptide precede the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2011;13(1):R13.
82. Verpoort KN, Jol-van der Zijde CM, Papendrecht-van der Voort EA, Ioan-Facsinay A, Drijfhout JW, van Tol MJ, et al. Isotype distribution of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in undifferentiated arthritis and rheumatoid arthritis reflects an ongoing immune response. *Arthritis Rheum.* 2006;54(12):3799-808.
83. Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, Kallberg 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. *Arthritis Rheum.* 2006;54(1):38-46.
84. Makrygiannakis D, Hermansson M, Ulfgren AK, Nicholas AP, Zendman AJ, Eklund A, et al. Smoking increases peptidylarginine deiminase 2 enzyme expression in human lungs and increases citrullination in BAL cells. *Ann Rheum Dis.* 2008;67(10):1488-92.
85. Reynisdottir G, Olsen H, Joshua V, Engstrom M, Forsslund H, Karimi R, et al. Signs of immune activation and local inflammation are present in the bronchial tissue of patients with untreated early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2016;75(9):1722-7.
86. Rangel-Moreno J, Hartson L, Navarro C, Gaxiola M, Selman M, Randall TD. Inducible bronchus-associated lymphoid tissue (iBALT) in patients with pulmonary complications of rheumatoid arthritis. *J Clin Invest.* 2006;116(12):3183-94.
87. Foo SY, Phipps S. Regulation of inducible BALT formation and contribution to immunity and pathology. *Mucosal Immunol.* 2010;3(6):537-44.
88. Catrina AI, Ytterberg AJ, Reynisdottir G, Malmstrom V, Klareskog L. Lungs, joints and immunity against citrullinated proteins in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol.* 2014;10(11):645-53.
89. Keith RC, Powers JL, Redente EF, Sergew A, Martin RJ, Gizinski A, et al. A novel model of rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease in SKG mice. *Exp Lung Res.* 2012;38(2):55-66.
90. Wakasa-Morimoto C, Toyosaki-Maeda T, Matsutani T, Yoshida R, Nakamura-Kikuoka S, Maeda-Tanimura M, et al. Arthritis and pneumonitis produced by the same T cell clones from mice with spontaneous autoimmune arthritis. *Int Immunol.* 2008;20(10):1331-42.
91. Kwon OC, Lee EJ, Chang EJ, Youn J, Ghang B, Hong S, et al. IL-17A(+)GM-CSF(+) Neutrophils Are the Major Infiltrating Cells in Interstitial Lung Disease in an Autoimmune Arthritis Model. *Front Immunol.* 2018;9:1544.
92. Doyle TJ, Patel AS, Hatabu H, Nishino M, Wu G, Osorio JC, et al. Detection of Rheumatoid Arthritis-Interstitial Lung Disease Is Enhanced by Serum Biomarkers. *Am J Respir Crit Care Med.* 2015;191(12):1403-12.
93. Chen J, Doyle TJ, Liu Y, Aggarwal R, Wang X, Shi Y, et al. Biomarkers of rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease. *Arthritis Rheumatol.* 2015;67(1):28-38.
94. Bernstein EJ, Barr RG, Austin JHM, Kawut SM, Raghu G, Sell JL, et al. Rheumatoid arthritis-associated autoantibodies and subclinical interstitial lung disease: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Thorax.* 2016;71(12):1082-90.
95. Solomon JJ, Matson S, Kelmenson LB, Chung JH, Hobbs SB, Rosas IO, et al. IgA Antibodies Directed Against Citrullinated Protein Antigens Are Elevated in Patients With Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Chest.* 2019.

96. Fingerlin TE, Zhang W, Yang IV, Ainsworth HC, Russell PH, Blumhagen RZ, 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(1):74.
97. Furukawa H, Oka S, Shimada K, Sugii S, Ohashi J, Matsui T, et al. Association of human leukocyte antigen with interstitial lung disease in rheumatoid arthritis: a protective role for shared epitope. *PLoS One.* 2012;7(5):e33133.
98. Michalski JP, McCombs CC, Scopelitis E, Biundo JJ, Jr., Medsger TA, Jr. Alpha 1-antitrypsin phenotypes, including M subtypes, in pulmonary disease associated with rheumatoid arthritis and systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 1986;29(5):586-91.
99. Migita K, Nakamura T, Koga T, Eguchi K. HLA-DRB1 alleles and rheumatoid arthritis-related pulmonary fibrosis. *J Rheumatol.* 2010;37(1):205-7.
100. Oka S, Furukawa H, Shimada K, Sugii S, Hashimoto A, Komiya A, et al. Association of human leukocyte antigen alleles with chronic lung diseases in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2016;55(7):1301-7.
101. Song ST, Kim SS, Kim JY, Lee SY, Kim K, Kwon IS, et al. Association of Single Nucleotide Polymorphisms of PADI4 and HLA-DRB1 Alleles with Susceptibility to Rheumatoid Arthritis-Related Lung Diseases. *Lung.* 2016;194(5):745-53.
102. Spagnolo P, Cottin V. Genetics of idiopathic pulmonary fibrosis: from mechanistic pathways to personalised medicine. *J Med Genet.* 2017;54(2):93-9.
103. Fingerlin TE, Murphy E, Zhang W, Peljto AL, Brown KK, Steele MP, et al. Genome-wide association study identifies multiple susceptibility loci for pulmonary fibrosis. *Nat Genet.* 2013;45(6):613-20.
104. Noth I, Zhang Y, Ma SF, Flores C, Barber M, Huang Y, et al. Genetic variants associated with idiopathic pulmonary fibrosis susceptibility and mortality: a genome-wide association study. *Lancet Respir Med.* 2013;1(4):309-17.
105. Alder JK, Stanley SE, Wagner CL, Hamilton M, Hanumanthu VS, Armanios M. Exome sequencing identifies mutant TINF2 in a family with pulmonary fibrosis. *Chest.* 2015;147(5):1361-8.
106. Borie R, Tabeze L, Thabut G, Nunes H, Cottin V, Marchand-Adam S, et al. Prevalence and characteristics of TERT and TERC mutations in suspected genetic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J.* 2016;48(6):1721-31.
107. Kannengiesser C, Borie R, Menard C, Reocreux M, Nitschke P, Gazal S, et al. Heterozygous RTEL1 mutations are associated with familial pulmonary fibrosis. *Eur Respir J.* 2015;46(2):474-85.
108. Nathan N, Giraud V, Picard C, Nunes H, Dastot-Le Moal F, Copin B, et al. Germline SFTPA1 mutation in familial idiopathic interstitial pneumonia and lung cancer. *Hum Mol Genet.* 2016;25(8):1457-67.
109. Cottin V, Cordier JF. SFTPC mutations in patients with familial pulmonary fibrosis: combined with emphysema? *Am J Respir Crit Care Med.* 2011;183(8):1113; author reply -4.
110. Seibold MA, Wise AL, Speer MC, Steele MP, Brown KK, Loyd JE, et al. A common MUC5B promoter polymorphism and pulmonary fibrosis. *N Engl J Med.* 2011;364(16):1503-12.
111. Wang Y, Kuan PJ, Xing C, Cronkhite JT, Torres F, Rosenblatt RL, et al. Genetic defects in surfactant protein A2 are associated with pulmonary fibrosis and lung cancer. *Am J Hum Genet.* 2009;84(1):52-9.
112. Gower WA, Wert SE, Ginsberg JS, Golan A, Whitsett JA, Noguee LM. Fatal familial lung disease caused by ABCA3 deficiency without identified ABCA3 mutations. *J Pediatr.* 2010;157(1):62-8.

113. Victorelli S, Passos JF. Telomeres and Cell Senescence - Size Matters Not. *EBioMedicine*. 2017;21:14-20.
114. Armanios M, Blackburn EH. The telomere syndromes. *Nat Rev Genet*. 2012;13(10):693-704.
115. Alder JK, Chen JJ, Lancaster L, Danoff S, Su SC, Cogan JD, et al. Short telomeres are a risk factor for idiopathic pulmonary fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(35):13051-6.
116. Mialou V, Leblanc T, Peffault de Latour R, Dalle JH, Socie G. [Dyskeratosis congenita: an update]. *Arch Pediatr*. 2013;20(3):299-306.
117. Heiss NS, Knight SW, Vulliamy TJ, Klauck SM, Wiemann S, Mason PJ, et al. X-linked dyskeratosis congenita is caused by mutations in a highly conserved gene with putative nucleolar functions. *Nat Genet*. 1998;19(1):32-8.
118. Armanios MY, Chen JJ, Cogan JD, Alder JK, Ingersoll RG, Markin C, et al. Telomerase mutations in families with idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med*. 2007;356(13):1317-26.
119. Kropski JA, Mitchell DB, Markin C, Polosukhin VV, Choi L, Johnson JE, et al. A novel dyskerin (DKC1) mutation is associated with familial interstitial pneumonia. *Chest*. 2014;146(1):e1-e7.
120. Fukuhara A, Tanino Y, Ishii T, Inokoshi Y, Saito K, Fukuhara N, et al. Pulmonary fibrosis in dyskeratosis congenita with TINF2 gene mutation. *Eur Respir J*. 2013;42(6):1757-9.
121. Stuart BD, Choi J, Zaidi S, Xing C, Holohan B, Chen R, et al. Exome sequencing links mutations in PARN and RTEL1 with familial pulmonary fibrosis and telomere shortening. *Nat Genet*. 2015;47(5):512-7.
122. Whittsett JA, Wert SE, Weaver TE. Alveolar surfactant homeostasis and the pathogenesis of pulmonary disease. *Annu Rev Med*. 2010;61:105-19.
123. Glasser JR, Mallampalli RK. Surfactant and its role in the pathobiology of pulmonary infection. *Microbes Infect*. 2012;14(1):17-25.
124. Flamein F, Riffault L, Muselet-Charlier C, Pernelle J, Feldmann D, Jonard L, et al. Molecular and cellular characteristics of ABCA3 mutations associated with diffuse parenchymal lung diseases in children. *Hum Mol Genet*. 2012;21(4):765-75.
125. Wang M, Bridges JP, Na CL, Xu Y, Weaver TE. Meckel-Gruber syndrome protein MKS3 is required for endoplasmic reticulum-associated degradation of surfactant protein C. *J Biol Chem*. 2009;284(48):33377-83.
126. Jovien S, Borie R, Doummar D, Clement A, Nathan N. Respiratory Distress, Congenital Hypothyroidism and Hypotonia in a Newborn. *Respiration*. 2016;92(3):188-91.
127. Thouvenin G, Abou Taam R, Flamein F, Guillot L, Le Bourgeois M, Reix P, et al. Characteristics of disorders associated with genetic mutations of surfactant protein C. *Arch Dis Child*. 2010;95(6):449-54.
128. van Moorsel CH, van Oosterhout MF, Barlo NP, de Jong PA, van der Vis JJ, Ruven HJ, et al. Surfactant protein C mutations are the basis of a significant portion of adult familial pulmonary fibrosis in a dutch cohort. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010;182(11):1419-25.
129. Helling BA, Gerber AN, Kadiyala V, Sasse SK, Pedersen BS, Sparks L, et al. Regulation of MUC5B Expression in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2017;57(1):91-9.
130. Chen G, Ribeiro CMP, Sun L, Okuda K, Kato T, Gilmore RC, et al. XBP1S Regulates MUC5B in a Promoter Variant-Dependent Pathway in Idiopathic Pulmonary Fibrosis Airway Epithelia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019;200(2):220-34.

131. Peljto AL, Zhang Y, Fingerlin TE, Ma SF, Garcia JG, Richards TJ, et al. Association between the MUC5B promoter polymorphism and survival in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *JAMA*. 2013;309(21):2232-9.
132. 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(4):712-7.
133. Evans CM, Fingerlin TE, Schwarz MI, Lynch D, Kurche J, Warg L, et al. Idiopathic Pulmonary Fibrosis: A Genetic Disease That Involves Mucociliary Dysfunction of the Peripheral Airways. *Physiol Rev*. 2016;96(4):1567-91.
134. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, 3rd, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum*. 2010;62(9):2569-81.
135. Raghu G, Collard HR, Egan JJ, Martinez FJ, Behr J, Brown KK, 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(6):788-824.
136. Juge PA, Borie R, Kannengiesser C, Gazal S, Revy P, Wemeau-Stervinou L, et al. Shared genetic predisposition in rheumatoid arthritis-interstitial lung disease and familial pulmonary fibrosis. *Eur Respir J*. 2017;49(5).
137. Weinblatt ME, Coblyn JS, Fox DA, Fraser PA, Holdsworth DE, Glass DN, et al. Efficacy of low-dose methotrexate in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*. 1985;312(13):818-22.
138. Guidelines for the management of rheumatoid arthritis. American College of Rheumatology Ad Hoc Committee on Clinical Guidelines. *Arthritis Rheum*. 1996;39(5):713-22.
139. Weinblatt ME. Efficacy of methotrexate in rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol*. 1995;34 Suppl 2:43-8.
140. Saag KG, Teng GG, Patkar NM, Anuntiyo J, Finney C, Curtis JR, et al. American College of Rheumatology 2008 recommendations for the use of nonbiologic and biologic disease-modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2008;59(6):762-84.
141. Prelog M. Aging of the immune system: a risk factor for autoimmunity? *Autoimmun Rev*. 2006;5(2):136-9.
142. Lee Y, Bae S-C. Association between shortened telomere length and rheumatoid arthritis. *Zeitschrift für Rheumatologie*. 2018;77(2):160-7.
143. Dehbi AZ, Radstake TR, Broen JC. Accelerated telomere shortening in rheumatic diseases: cause or consequence? *Expert Rev Clin Immunol*. 2013;9(12):1193-204.
144. Schonland SO, Lopez C, Widmann T, Zimmer J, Bryl E, Goronzy JJ, et al. Premature telomeric loss in rheumatoid arthritis is genetically determined and involves both myeloid and lymphoid cell lineages. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(23):13471-6.
145. Steer SE, Williams FM, Kato B, Gardner JP, Norman PJ, Hall MA, et al. Reduced telomere length in rheumatoid arthritis is independent of disease activity and duration. *Ann Rheum Dis*. 2007;66(4):476-80.
146. Mak AC, Tang PL, Cleveland C, Smith MH, Kari Connolly M, Katsumoto TR, et al. Brief Report: Whole-Exome Sequencing for Identification of Potential Causal Variants for Diffuse Cutaneous Systemic Sclerosis. *Arthritis Rheumatol*. 2016;68(9):2257-62.
147. Sun C, Molineros JE, Looger LL, Zhou XJ, Kim K, Okada Y, et al. High-density genotyping of immune-related loci identifies new SLE risk variants in individuals with Asian ancestry. *Nat Genet*. 2016;48(3):323-30.
148. ten Brinke A, van Golde LM, Batenburg JJ. Palmitoylation and processing of the lipopeptide surfactant protein C. *Biochim Biophys Acta*. 2002;1583(3):253-65.

149. Nogee LM, Dunbar AE, 3rd, Wert SE, Askin F, Hamvas A, Whitsett JA. A mutation in the surfactant protein C gene associated with familial interstitial lung disease. *N Engl J Med.* 2001;344(8):573-9.
150. Hartjen N, Brauer L, Reiss B, Claassen H, Beileke S, Garreis F, et al. Evaluation of surfactant proteins A, B, C, and D in articular cartilage, synovial membrane and synovial fluid of healthy as well as patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *PLoS One.* 2018;13(9):e0203502.
151. Borie R, Crestani B, Dieude P, Nunes H, Allanore Y, Kannengiesser C, 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.
152. Johnson C, Rosen P, Lloyd T, Horton M, Christopher-Stine L, Oddis CV, et al. Exploration of the MUC5B promoter variant and ILD risk in patients with autoimmune myositis. *Respir Med.* 2017;130:52-4.
153. Newton CA, Oldham JM, Ley B, Anand V, Adegunsoye A, Liu G, et al. Telomere length and genetic variant associations with interstitial lung disease progression and survival. *Eur Respir J.* 2019;53(4).
154. Ley B, Newton CA, Arnould I, Elicker BM, Henry TS, Vittinghoff E, 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(8):639-47.
155. Tsuchiya N. Genetics of ANCA-associated vasculitis in Japan: a role for HLA-DRB1*09:01 haplotype. *Clin Exp Nephrol.* 2013;17(5):628-30.
156. Ibfelt EH, Jacobsen RK, Kopp T, Cordtz R, Jakobsen AS, Seersholm N, et al. OP0232 TREATMENT WITH METHOTREXATE AND RISK OF LUNG DISEASE IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS: A NATIONWIDE POPULATION-BASED COHORT STUDY FROM DENMARK. *BMJ Publishing Group Ltd;* 2020.
157. Baughman RP, Grutters JC. New treatment strategies for pulmonary sarcoidosis: antimetabolites, biological drugs, and other treatment approaches. *Lancet Respir Med.* 2015;3(10):813-22.
158. Noble PW, Albera C, Bradford WZ, Costabel U, Glassberg MK, Kardatzke D, et al. Pirfenidone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis (CAPACITY): two randomised trials. *Lancet.* 2011;377(9779):1760-9.
159. Richeldi L, du Bois RM, Raghu G, Azuma A, Brown KK, Costabel U, et al. Efficacy and safety of nintedanib in idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med.* 2014;370(22):2071-82.
160. Distler O, Highland KB, Gahlemann M, Azuma A, Fischer A, Mayes MD, et al. Nintedanib for Systemic Sclerosis-Associated Interstitial Lung Disease. *N Engl J Med.* 2019;380(26):2518-28.
161. Flaherty KR, Wells AU, Cottin V, Devaraj A, Walsh SLF, Inoue Y, et al. Nintedanib in Progressive Fibrosing Interstitial Lung Diseases. *N Engl J Med.* 2019;381(18):1718-27.
162. Wells AU, Flaherty KR, Brown KK, Inoue Y, Devaraj A, Richeldi L, et al. Nintedanib in patients with progressive fibrosing interstitial lung diseases-subgroup analyses by interstitial lung disease diagnosis in the INBUILD trial: a randomised, double-blind, placebo-controlled, parallel-group trial. *Lancet Respir Med.* 2020.
163. Peljto AL, Selman M, Kim DS, Murphy E, Tucker L, Pardo A, et al. The MUC5B promoter polymorphism is associated with idiopathic pulmonary fibrosis in a Mexican cohort but is rare among Asian ancestries. *Chest.* 2015;147(2):460-4.
164. Dressen A, Abbas AR, Cabanski C, Reeder J, Ramalingam TR, Neighbors M, et al. Analysis of protein-altering variants in telomerase genes and their association with MUC5B common

variant status in patients with idiopathic pulmonary fibrosis: a candidate gene sequencing study. *Lancet Respir Med.* 2018;6(8):603-14.

Annexe 2 : Editorial, “Breathing new life into Interstitial Lung Disease in Rheumatoid Arthritis”, Gregersen et al, New England Journal of Medicine, 2018

Liste des éléments sous droit retirés de la version de diffusion

- Figure 1b
- Figure 2
- Figure 6
- Figure 7
- Figure 8
- Figure 10
- Figure 12
- Figure 13
- Figure 15
- Figure 16
- Premier article ERJ
- Figure 17
- Deuxième article NEJM
- Troisième article ERJ
- Figure 18
- Figure 19
- Figure 23
- Annexe 1
- Annexe 2