

Anti-Cyclic Citrullinated Peptide(Anti-CCP) 측정에 대한 연구

대구보건대학 임상병리과

서 설

A Study on the Measurement of Anti-Cyclic Citrullinated Peptide (Anti-CCP)

Seol Seo

Department of Clinical Pathology, Daegu Health College, Daegu 702-722, Korea

This study was carried out to review and evaluate anti-CCP ELISA assay for diagnostic in RA patients from an early arthritis clinic (EAC). The subjects were obtained from patients visiting the outpatient clinic of the Dept. of Rheumatology med.of P hospital in Daegu, during 6 months from July 1, 2006 to December 31, 2006. The subjects were 140 cases : 80 cases from RA patients (60 women and 20 men; mean age 58 years; range, 32-68 years) confirmed by clinical diagnostic. 39 cases of these RA patients were classified as having early RA (EAC). 50 cases (non-RA) did not fulfill the criteria for RA, and 10 cases were from healthy individuals. We performed the analysis with solid phase-ELISA method (ETI-max3000, Diasorin; Italy) for anti-CCP and Nephelometry assay (Roche/Hitachi 902 analyzer; USA) for RF. The results obtained were summarized as follows ; anti-CCP ELISA is more specific than RF Nephelometry assay (specificity 94% vs 90%) to diagnose RA patients with suspected EAC (early arthritis clinic). The combination test "anti-CCP and RF" had a very high specificity (specificity 98.3%, PPV; RA group 96%, EAC 95%), the difference was statistically significant ($p<0.05$). Anti-CCP ELISA had more sensitivity in EAC (Early arthritis clinic) patients than chronic RA patients (sensitivity 64% vs 24%, respectively), anti-CCP of RA group and EAC group was more specific than RF (anti-CCP PPV; 92%, 89% vs 89%, 81% respectively), the difference was statistically significant ($p<0.05$). The difference of antibody concentration between anti-CCP and RF for RA and the control group is statistically significant ($p<0.05$). In conclusion, anti-CCP ELISA testing may be useful if performed concomitantly with RF Nephelometry assay to diagnose RA patients with suspected EAC (early arthritis clinic).

Key words: Anti-CCP, ELISA, Nephelometry assay, EAC

I. 서 론

류마티스관절염(RA: Rheumatoid arthritis)은 전세계인구의 1% 정도가 영향을 받을 정도로 가장 흔한 자가면역 질환으로 관절주위 활액막의 염증으로 인한 연골손상 및 관절 변형을 초래하는 질환이다. RA 진단은 임상적, 방

교신저자 : 서설, (우)702-722 대구광역시 북구 태전동 산 7번지
대구보건대학 임상병리과
Tel : 053-633-8344, 011-802-8344
E-Mail : seol@mail.thc.ac.kr

Table 1. Measuring method and reference range of analysed materials in this study

Measuring method	analysed materials	reference range	expected values
ELISA	anti-CCP	0~300 U/mL	≤ 15 U/mL
Nephelometry	RF	7~130 IU/mL	< 14 IU/mL

사능, 그리고 면역성의 특징에 근거하는데 1차적으로 사용되는 혈청학적 검사의 사용은 여전히 제한적이다. 오래 전부터 사용되고 있는 RA의 혈청학적 표지자인 RF (Rheumatoid Factor)의 IgM은 RA 환자의 60~80%에서 발견될 정도로 가장 일반적인 요소이다. 이러한 RF 요소는 건강인, 다른 자가면역질환자, 만성감염환자 등에서 자주 출현하는 것으로 보아 RA 진단 시 특이적이지는 않다(Barland와 Lipstein, 1996). 그러나 RF의 낮은 특이성에도 불구하고 양성 RF는 RA 결과의 중요한 예측인자로 고려되고 있다. 따라서 RA 진단에 민감도와 특이도가 높은 다른 표지자 항체의 필요성이 요구되고 있다. 수년간 APF(anti perinuclear factor)와 AKA(anti keratin antibody) 항체가 RA에 대해 매우 특이적인 항체로 인식되어 오고 있다(Sebbag 등, 1995).

APF와 AKA 항체는 구강상피와 쥐 식도를 사용한 간접면역형광기술로 찾을 수가 있고 높은 특이성에도 불구하고 적합한 구강세포의 제공자 부족과 기질제작의 기술적 어려움과 결과 판독에 있어 숙련된 기술이 필요하고 표준화된 정량분석의 문제점 등으로 인해 일상적인 검사로의 사용이 제한되고 있다(Serre 등, 1996; Youinou 등, 1996).

최근에는 독특한 아미노산 시트룰린을 포함하는 합성 펩타이드(citrullinated peptide)를 이용한 anti-CCP(cyclic citrullinated peptide)를 측정하는 ELISA 법이 개발되어 사용되고 있으며 이 방법은 이용이 간편하고 특이적인 반정량 측정법으로 결과 해석이 명확하여 초기 RA 진단에 유용하다는 연구보고와 함께 anti-CCP 검사는 류마티스관절염의 증상이 나타나기 수년전에 미리관절염의 발생을 예측할 수 있으며 조기 관절염 환자에 대한 연구에서 이들 환자의 40~70%에서 anti-CCP 항체가 발견되었다는 연구보고도 있다(Simon 등, 1993; Sebbag 등, 1995; Schellekens 등, 1998; Schellekens 등, 2000).

이와 관련하여 RA 조기 진단검사에 ELISA 법을 이용한

anti-CCP 항체 및 Nephelometry assay를 이용한 RF(Rheumatoid Factor) 검사의 유용성을 알아보고자 이 연구를 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 대상

2006년 7월부터 12월까지의 여섯 달 동안 대구 P종합병원 류마티스내과에 내원한 환자 중 류마티스관절염의 임상적 분류(Arnett 등, 1988) 및 검사실 성적으로 확진된 RA(Rheumatoid arthritis) 환자 80명과 대조군 60명을 대상으로 하였고 환자군에는 남자 20명, 여자 60명으로 평균나이 58세, 범위 32~68세의 분포를 보였으며 이중 39명(48.7%)은 초기RA로 진단되었다. 대조군 중 50명은 Non-RA 질환 상태인 사람이며, 10명은 건강군이었다. 두 대상군의 나이, 성별, 진단 시기 등의 기록된 검사자료를 분석에 이용되었다.

2. 방법

Anti-CCP 항체 측정은 solid phase- ELISA법(ETI-max3000, Diasorin, Italy)으로 RF 측정은 Nephelometric assay (Roche/Hitachi 902 analyzer, USA)로 분석되었다. 각 측정법에 따른 측정범위 및 기대치는 다음과 같다(Table 1).

사용된 검체는 신선한 혈청을 사용하였고 황달, 지질, 용혈, 세균 감염 된 혈청은 사용하지 않았다. 검체는 혈청 분리후 즉시 사용하거나 저장 시 각각 밀봉하여 2~8°C에서 보관 후 3일 이내에 사용되었다.

두 검사방법 간의 정밀도를 보기 위한 재현성 분석을 위해서 대조 항체를 이용하여 intraassay는 동시 10회, interassay는 2회 각각 10번씩 실시하였다. 자료의 통계적 검증은 SPSSWIN(Version 10.0) 통계프로그램을 이용한

Table 2. Distribution anti-CCP in RA patients and control group

Group/Discription*	Total	anti-CCP(+)	anti-CCP(-)	Clinical specificity(%)
RA	80	35	45	56
non-RA	50	3	47	94
SS	4	0	4	100
SLE	6	1	5	83
AITD	5	1	4	80
Lyme	8	1	7	88
Gout	10	0	10	100
VD	2	0	2	100
Cancer	2	0	2	100
AS	13	0	13	100
Health group	10	0	10	100
Total	140	38	102	73

* RA, rheumatoid arthritis; SS, Sjogren's syndrome; SLE, Systemic lupus erythematosus; AITD, Autoimmune thyroid disease; VD, viral disease; AS, Ankylosing spondylitis

Table 3. Frequency of anti-CCP reactive in RA patients and Non RA group

Group	n	anti-CCP(+)	anti-CCP(-)	p value
RA-patient	80	35	45	
EAC*	39	25	14	p<0.05
chronic RA	41	10	31	
Non-RA	50	3	47	

* EAC, early arthritis clinic

여 분석하였고 모든 통계적 유의수준은 P<0.05로 하였다.

III. 결 과

임상적 진단에 근거한 RA 환자 80명 중 35명(43.8%)이 anti-CCP 양성이었다고 매우 고농도인 반면에 45명(56.2%)은 anti-CCP 음성이었으며 저농도이었다.

대조군(60명) 중 non-RA 질환자(50명)은 Sjogren's syndrome(4명), SLE(6명), AITD(5명), Lyme(8명), gout(10명), viral disease(2명), cancer(2명), Ankylosing spondylitis(13명)으로 구성되었으며 이중 3명(5% ; SLE 1명, AITD 1명, Lyme 질환 1명)이 anti-CCP 양성반응으로

나타났으며 건강대조군에서는 나타나지 않았다. ELISA 법의 anti-CCP의 임상적 특이성은 94%로 높게 나타났다. 반면에 RA 질환자는 56%로 나타났다(Table 2).

RA 환자군(80명)의 EAC 39명 중 anti-CCP(+) 25명(64%), anti-CCP(-) 14명(36%)이었고 chronic RA 41명 중 anti-CCP(+) 10명(24%), anti-CCP(-) 31명(76%)이었다. anti-CCP 양성에 대한 RA 질환군 전체의 민감성은 44%로 낮았으나 EAC 환자의 민감성은 64%로 높게 나타났다. EAC 환자가 Chronic RA 환자보다 anti-CCP(+)에 대한 민감성도 높게 나타났다. 이는 anti-CCP 반응과 EAC 사이에 있어 통계적으로도 유의 하였다(p<0.05). anti-CCP 음성의 Non-RA 질환 임상적 특이성은 94%로 높게 나타났으며 anti-CCP 항체 유무와 나이, 성별 사이

Table 4. Antibody concentration of Anti-CCP and RF in RA patients and control group

group	n	Ab Con.* (U/mL)	Meseuredrange	n	Ab Con.* (IU/mL)	Meseuredrange		
RA (n=80)	anti-CCP(+)	35	88.7±58.8	17-220	RF(+)	48	36.9±24.3	15-110
	anti-CCP(-)	45	9.5±2.7	4-14	RF(-)	32	9.8±2.1	5-13
control (n=60)	anti-CCP(+)	3	36.3±26.5	20-67	RF(+)	6	19.6±7.6	11-35
	anti-CCP(-)	57	8.5±2.3	4-13	RF(-)	54	10.2±2.1	5-13

* Ab Con : antibody concentration

Table 5. Test result of intra and inter-assay according to antibody concentration

method	sample	intra assay			inter assay		
		Mean	SD	CV(%)	Mean	SD	CV(%)
ELISA	control 1 (U/mL)	29.7	0.67	2.27	30.0	1.145	3.825
	control 2 (U/mL)	200.9	2.07	1.03	200.5	2.09	1.07
Nephelometry	control 1 (IU/mL)	30	0.94	3.14	30.05	1.21	4.05
	control 2 (IU/mL)	49.3	1.05	2.14	50.85	1.645	3.245

는 관련성이 없었다(Table 3).

RA환자 80명 중 anti-CCP(+)
환자는 35명(44%), 평균 항체농도(U/mL)는 88.7±58.8, 범위는 17~220 U/mL이었고 anti-CCP(-)
환자는 45명(56%), 평균 항체농도(U/mL)는 9.5±2.7, 범위는 4~14이었다. Non-RA 질환자 50명
중 anti-CCP(+)
인 AITD감염자는 항체농도가 67 U/mL로 높게 나타났으며 RA질환도 가지고 있었다. 다른 것은 항체농도가 낮게 나타났다.

대조군 60명 중 anti-CCP(+)
은 3명, 평균 항체농도(U/mL)는 36.3±26.5, anti-CCP(-)
은 57명 평균 항체농도(U/mL)는 8.5±2.3 범위는 4~13이었다. RA환자 80명 중 RF(+)
환자는 48명(60%), 평균 항체농도(IU/mL)는 36.9±24.3, 범위는 15-110 IU/mL이었고 RF(-)
환자는 32명(40%), 평균 항체농도(IU/mL)는 9.8±2.1, 범위는 5~13 이었다.

대조군 60명 중 RF(+)
은 6명, 평균 항체농도(IU/mL)는 19.6±7.6, RF(-)
은 54명, 평균 항체농도(IU/mL)는 10.2±2.1 범위는 5~13이었다. 이들 6명의 RF(+)
자 중 AITD 감염자의 항체농도가 35 IU/mL로 높게 나타났으며 RA 질환도 가지고 있었다. 다른 것은 항체농도가 낮

게 나타났다. RA group과 control group에서 anti-CCP와 IgM-RF 사이의 농도평균치에 따른 유의한 차이를 보였다($p<0.05$)(Table 4).

측정법에 따른 재현성 비교실험에서 ELISA법 intra-assay의 각 control -농도별 평균치(U/mL)는 각각 29.7, 200.9, SD는 각각 0.67, 2.07, CV(%)는 2.27, 1.03 이었고 inter assay의 각 control-농도별 평균치(U/mL)는 각각 30.0, 200.5, SD는 각각 1.145, 2.09, CV(%)는 3.825, 1.07이었다. Nephelometric법 intra-assay의 각 control-농도별 평균치(IU/mL)는 각각 30.0, 49.3, SD는 각각 0.94, 1.05, CV(%)는 3.14, 2.14이었고 inter assay의 각 control-농도별 평균치(IU/mL)는 각각 30.05, 50.85, SD는 각각 1.21, 1.645, CV(%)는 4.05, 3.245이었다. 측정법의 전체 CV(%) 범위는 intra assay는 1.03~3.14%, inter assay는 1.07~4.05%이었다(Table 5).

RF prevalence를 보면 IgM-RF 양성은 RA 환자에서 48명(60.0%), control군에서 6명(10%) EAC군에서 26명(67%)이었다. 따라서 민감도는 RA군 60%, EAC군 67%, 특이도는 Control 군에서 90%이었다. RA(+)
group(80명) 중 anti-CCP, RF관계에서 28명(35%)은 둘 다 양성이며,

Table 6. Test results for the anti-CCP and the RF in RA patients and control group

		RA(+) n=80		control n=60		EAC(*) n=39	
		n	%	n	%	n	%
anti-CCP(+)	RF(+)	28	35	1	1.7	21	54
	RF(-)	7	8.8	2	3.3	4	10.2
anti-CCP(-)	RF(+)	20	25	5	8.3	5	12.8
	RF(-)	25	31.2	52	86.7	9	23

* EAC : RA patients from an early arthritis clinic

Table 7. Test characteristics of sera from RA and control group

	sensitivity(%)		specificity (%)	PPV(%)*		
	RA-group	EAC		RA group	EAC	
anti-CCP	44	64	94	92	89	p<0.05
RF	60	67	90	89	81	
anti-CCP or RF	69	77	86.7	79	56	
anti-CCP and RF	35	54	98.3	96	95	p<0.05

* PPV(%) ; positive predictive value

7명(8.8%)은 anti-CCP만 양성이었다. 또한 RF만 양성인 경우는 20명(25.0%), 둘 다 음성인 경우는 25명(31.2%)이었다. 대조군(60명)의 anti-CCP, RF 관계에서 1명(1.7%)은 둘 다 양성이며, 2명(3.3%)은 anti-CCP만 양성이었다. 또한 RF만 양성인 경우는 5명(8.3%), 둘 다 음성인 경우는 52명(86.7%)이었다. RA(+) group(80명)중 EAC(early arthritis clinic) 환자는 39명(49%)이며 이중 anti-CCP, RF 관계에서 21명(54%)은 둘 다 양성이며, 4명(10.2%)은 anti-CCP만 양성이었다. 또한 RF만 양성인 경우는 5명(12.8%), 둘 다 음성인 경우는 9명(23%)이었다(Table 6).

anti-CCP, RF의 민감도, 특이도 결과 비교에서 RF는 anti-CCP보다 민감도가 높고(60%와 44%), 특이도는 낮았다(90%와 94%) anti-CCP and RF 함께 분석 되었을 때의 특이도는 anti-CCP(94%), IgM-RF(90%) 각각 분석시보다 98.3%로 증가 되었으며 RA검사 및 EAC검사에 매우 특이적이었고 PPV는 각각 96%, 95%로 통계적으로 유의하였다(P<0.05).

그리고 RA-group 및 EAC group의 anti-CCP에 대한 PPV는 각각 92%, 89%로 IgM-RF 89%, 81%보다 높았고

역시 통계적으로 유의하였다(P<0.05)(Table 7).

IV. 고 찰

RA질환에 높은 민감성을 가진 자가항체가 근래 수년간 인정되어오고 있다. 이들 항체로 antiperinuclear factor(APF)와 antikeratin antibody(AKA)는 RA 진단 표지자로 사용되어지고 있다. APF는 사람의 구강점막의 표면 keratinocyte 내에 있는 profilaggrin variant를 인지하고 AKA는 인간 표피에 있는 filaggrin의 acidic-neutral isoform과 쥐 식도상피내 (pro)filaggrin의 다양한 분자형태를 인지한다. 이들 항체는 구강 상피세포와 쥐 식도 상피세포를 이용한 간접면역형광기술로 찾을 수가 있다. 그러나 높은 특이성에도 불구하고 낮은 민감도와 적합한 구강세포의 제공자 부족과 항원 기질성, 이용도 및 형광패턴에 따른 해석의 개관적 어려움이 있어 임상 검사로 사용되기에는 제한적이다(Serre 등, 1996; Youinou 등, 1996; Jung 등, 2002).

최근 이들 두 항체들의 항원이 세포 각질화에 관련된 중간 filament에 관련된 단백질인 상피의 filaggrin으로 확인되었고(Sebbag 등, 1995) 사람의 구강점막세포의 keratohyaline 과립안에 존재하는 profilaggrin은 proteolytically하게 세포 분화하는 동안 filaggrin subunits로 된 단백질은 탈인산화되어 효소 PAD에 의해 citrullin으로 전환된 것을 포함하는 합성단백질과 반응하는 항체들이 RA 혈청군에 존재함이 밝혀졌다.(Schellekens 등, 1998) 이들 항체가 anti-CCP(cyclic citrullin peptide)이다. 처음 anti-CCP 항체가 개발 되었을 때에는 민감도 50~70%, 특이성 98%로 민감도가 낮아 문제가 되었으나 최근에는 민감도가 개선된 2세대 anti-CCP 항체가 개발되어 높은 질환 특이성과 함께 보급되고 있는 추세이다.

이들 항체인 anti-CCP(cyclic citrullin peptide)는 RA 진단에 특이적이며 이를 검출하기위한 ELISA test(민감도 48%, 특이도 96%)에 대한 우수한 수행능력의 특징들이 보고되고 있으며(Schellekens 등, 2000) 이는 본 연구에서의 RA 질환군 80명의 진단적 민감도 44%, 특이도 94%와 비교할 때 의미 있는 성적을 보여주었다.

또한 anti-CCP 양성, 음성 검체 사이의 항체농도 차이가 있었으며 RA 환자군 anti-CCP 양성검체(평균 88.7±58.8 U/mL)는 음성검체(평균 9.5±2.7 U/mL)보다 항체농도가 높게 나타났다. 이는 Nicola Bizzaro 등(2001)의 연구보고 성적 RA anti-CCP(+) 환자 평균항체농도 (1100±764 units), RA anti-CCP(-) 환자 평균항체농도 (7.6±6.7 units), control 평균치(6.8±5.1 units)에서도 유사한 결과를 보였다. 본 연구의 RA 환자 80명 중 35명 (44.4%)이 anti-CCP양성이었고 매우 고농도이었으며 RA group과 control group에서 anti-CCP와 IgM-RF 사이의 농도평균치에 따른 유의한 차이를 보였다(p<0.05).

Anti-CCP 측정의 ELISA 법과 RF 측정의 Nephelometric assay 측정법에 따른 재현성 비교실험에서 ELISA 법 intra-assay의 각 control(1,2), CV(%)는 2.27, 1.03이었고 inter assay의 CV(%)는 3.825, 1.07이었다. Nephelometry법 intra-assay의 각 control(1,2), CV(%)는 3.14, 2.14이었고 inter assay의 CV(%)는 4.05, 3.245이었다. 측정법의 전체 CV(%) 범위는 intra assay는 1.03~3.14%, inter assay는 1.07~4.05%이었으며 두 방법 간에 유의한 차이는 없었다. Anti-CCP 검사는 류마티스관절염의 증상이

나타나기 수년전에 미리 관절염의 발생을 예측 할 수 있으며 조기 관절염환자에 대한 연구에서 이들 환자의 40~70%에서 anti-CCP 항체가 발견되었다는 보고도 있다(Bathon 등, 2000). 이들 결과는 synoval 항원의 citrullination과 이들의 citrullinated 항원에 대한 항체의 생산은 질병의 초기시기에 시작된다는 것을 나타낸다.

또한 RA 초기진단을 위한 지속성 관절염과 가장 연관이 있는 증상의 존속기간과 anti-CCP양성 기준이 보고(Visser 등, 2002)되기도 했으며 anti-CCP 항체들은 RA조기진단에 이용될 수 있는 표지자로 erosive RA와 non erosive RA 사이의 구별능력이 있는 높은 예상치를 가지고 있다는 연구 보고도 있다(Kroot 등, 2000). 본 연구에서 anti-CCP 양성에 대한 RA 질환군 전체의 민감성은 44%로 낮았으나 EAC 환자의 민감성은 64%로 높게 나타났으며 anti-CCP 반응과 early-RA(EAC) 사이에 있어 유의한 관계가 있었다(p<0.05).

Anti-CCP, IgM-RF의 민감도, 특이도 결과 비교에서 IgM-RF는 anti-CCP보다 민감도가 높고(60%와 44%), 특이도는 낮았다(90%와 94%). 이는 다른 보고(Bizzaro 등, 2001)의 결과와도 일치하는 경향을 보였다. 둘 다 함께 분석 되었을 때의 특이도는 anti-CCP(94%), IgM-RF (90%) 각각 분석 시보다 98.3%로 증가 되었으며 RA 검사 및 EAC 검사에 매우 특이적이었고 PPV는 각각 96%, 95%로 통계적으로 유의하였다(P<0.05). 그리고 RA-group 및 EAC group의 anti-CCP PPV는 각각 92%, 89%로 IgM-RF 89%, 81%보다 높았고 역시 통계적으로 유의하였다(P<0.05). 이에 대한 anti-CCP 반응과 EAC 사이의 의미 있는 상관성은 Schellekens 등(2000)의 연구보고에서 EAC RA 환자의 PPV는 anti-CCP(84%), IgM -RF(74%), Anti-CCP and RF(91%)이었고 특이도는 anti-CCP and RF (98%)로 본 연구 성적과 의미 있는 수치를 보였다. anti-CCP 항체 유무와 나이, 성별 사이는 관련성이 없었으며 anti-CCP 양성인 환자는 anti-CCP 음성인 환자보다 방사성물질에 의한 손상이 보다 심각하다는 보고도 있었다(Quinn 등, 2001). 비록 감도와 특이도가 다를지라도 대부분의 citrullinated 단백질-peptide 항원은 RA 자가항체의 하나인 anti-CCP에 의해 인식되어지며 이러한 결과는 citrullinated 항원이 RA 조기진단과 prognosis에 중요한 역할을 한다는 것을 의미한다고 볼 수 있다.

결론적으로 RA 진단에 ELISA 법을 이용한 anti-CCP 분석은 매우 유용하며 특히 조기-RA 진단에 도움을 줄 수 있는 선택적인 검사로 보인다. ELISA 법을 이용한 anti-CCP 측정은 민감도가 낮으나 최근에는 민감도가 개선된 2세대 anti-CCP 항체 측정법이 개발되어 높은 질환 특이성과 함께 보급되고 있는 추세이며 매우 특이적인 검사로 보인다. 또한 RA 진단 시 anti-CCP 측정과 함께 RF 측정을 동시에 할 경우 보다 특이적인 검사로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 31:315-324, 1988.
2. Barland P, Lipstein E. Selection and use of Laboratory tests in rheumatic diseases. *Am J Med* 100(suppl 2A):165-325, 1996.
3. Bathon JM, Martin RW, Fleischmann RM, Tesser JR, Schiff Keystone EC. A comparison of etanercept and methotrexate in patients with early rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 343:1586-1593, 2000.
4. Bizzaro N, Mazzanti G, Tonutti E, Villalta D, Tozzoli R. Diagnostic accuracy of the anti-citrulline antibody assay for rheumatoid arthritis. *Clin Chem* 47(6):1089-1093, 2001.
5. Kroot E-J.A, de Jong B.A.W, van Leeuwen M.A, Swinkels H. The prognostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1831-1835, 2000.
6. Jung KY, Kim SG, Suh HS, Lee JB, Kim CG, Soug YH, Choe JY, Shin IH. Diagnostic Value of the Antiperinuclear Factor by Indirect Immunofluorescence Method. *Korean J Lab Med* 22:336-341, 2002.
7. Quinn MA, Gough A., Green MJ, Devlin J, Astin, P, Henshaw K and Emery P. Early RA: anti ccp antibodies predict radiographic progression. *Arthritis Rheum* 44 (suppl.9): abs 741, 2001.
8. Schellekens GA, de jong BAW, van den Hoogen FHJ, van de putte LBA, van Venrooij WJ. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 101:273-281, 1998.
9. Schellekens GA, Visser H, de jong BAW, van den Hoogen FHJ, Hazes JMW, Breedveld FC. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 43:155-163, 2000.
10. Sebbag M, Simon M, Vincent C, Masson Vessiere C, Gibril E, Durieux J. The antiperinuclear factor and so-called antikeratin antibodies are the same rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 95:2672-2679, 1995.
11. Serre G, Vincent C. Fillaggrin(keratin) autoantibodies. *Amsterdam Elsevier Science BV* 271-276, 1996.
12. Simon M, Gibril E, Sebbag M, Gomes-Daudrix V, Vincent Salama G. The cytokeratin filament-aggregating protein filaggrin is the target of the so-called "antikeratin autoantibodies" specific for rheumatoid arthritis. *J Clin invest* 92:1387-1393, 1993.
13. Youinou P, Le Goff P, Maran R. Perinuclear factor (profilin) autoantibodies. *Amsterdam Elsevier Science BV* 618-623, 1996.
14. Visser H, Cessie S, Vos K, Breedveld F. and Hazer J. How to diagnose rheumatoid arthritis early. *Arthritis Rheum* 46(2):357-365, 2002.