

何故 DMARD の効果減弱が起こるか

山田 久方 九州大学生体防御医学研究所感染制御学分野

(2007年、第8回博多リウマチセミナー)

DMARD の効果減弱の臨床データ (代表例)

Wolfe (1990)¹: 14年の前向き研究。計1017名。DMARDs 使用継続年数(中間値)はクロロキン、D-ペニシラミン、GST、オーラノフィン < 2年。しかし MTX > 4年

Galindo-Rodriguez (1999)²: 計2296例。やはり MTX が最も長い。

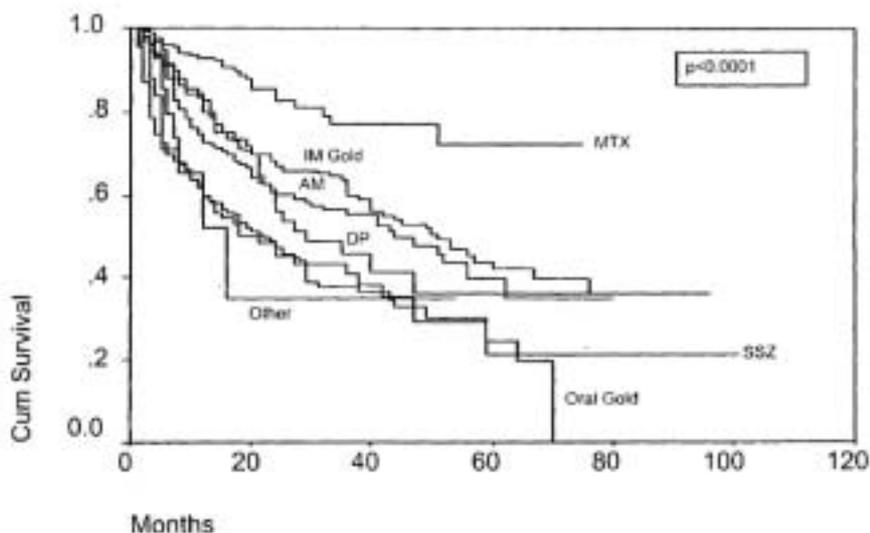


Figure 3. Kaplan-Meier curves for discontinuation due to inefficacy.

その他いずれの報告でも MTX は他の DMARD に比べ効果の持続が長い

日本からの報告では (Nagashima 2006)³: 5年継続率 MTX83%、Buc76%、SASP68% → 日本の低用量 MTX でも継続率は高い

DMARD の効果の減弱は単なる病勢の自然経過では ?

ten Wolde (1996)⁴: 長期投与中の DMARDs を中止すると 38% で再燃 (継続群は 22%) → やはり効果の減弱と考えた方が良さそう。

どのような患者が長期持続 ?

Pincus (1992)⁵: いずれの DMARDs の継続率も年齢、罹病期間とは無関係。以前の DMARD 投与歴は関係ない。

Ortendahl (2000)⁶: MTX 投与開始時の疼痛関節数、罹病期間と投与継続率が逆相関。しかし DMARD 投与歴は正に相関。

Maradit-Kremers (2006)⁷: MTX 使用歴のある人は、その後の DMARD 継続率低い。罹病期間はむしろ正に相関。

DMARD の効果減弱のメカニズム ～薬剤耐性の獲得?～

薬剤耐性の一般的メカニズム

- 1) 細胞への薬剤到達の障害 (吸収または排泄亢進、タンパクへの結合など)
- 2) 細胞の薬剤取り込みの障害
- 3) 薬剤活性化の障害。薬剤不活性化の亢進
- 4) 薬剤標的の量あるいは質的变化
- 5) 薬剤標的の下流のシグナル変化

薬剤耐性は腫瘍細胞ではよく研究されているが、近年 RA でも急速に研究が進行。主に *in vitro* 培養実験による細胞レベルでの解析。

① MTX (現在最も詳しく薬剤耐性が調べられている)

MTX の細胞内への取り込みと作用機序

MTX は RFC1 (reduced folate carrier 1)、葉酸レセプター (folate receptor : FR) によって能動輸送により細胞内に取り込まれる。

MTX の細胞外への排出には ATP-binding cassette (ABC) ファミリートランスポーターが関与。特に ABCC1-5 と ABCG2。

MTX は細胞内に取り込まれた後、folypolyglutamyl syntase (FPGS) により MTX-ポリグルタミン酸になり、これは細胞内に維持される。

逆に γ glutamyl hydrase (GGH) はグルタミン酸を除去し、MTX の細胞外排出を促進。

MTX-ポリグルタミン酸は dihydrofolate reductase (DHFR) に結合し、それによるテトラヒドロ葉酸の産生を阻害 → DNA 合成阻害 (滑膜細胞等の増殖抑制、リンパ球に働けば免疫抑制に)

また aminoimidazole carboxamide ribonucleotide (AICAR) transformylase を阻害し、アデノシン蓄積による抗炎症作用も持つ。IL-1、IL-6、TNF- α などのサイトカイン産生などを抑制。

※注

生体内では MTX は速やかに血中から排出 (24 時間以内) されるが、週一回の MTX 少量投与 (腫瘍化学療法の 1/1000) が実際どのような作用が主 (増殖抑制? 抗炎症?) で、どのような細胞を標的に働くのかはよくわかっていない。

MTX の薬剤耐性機序 (ただしほとんどは腫瘍細胞を用いた研究から)

RFC1 の発現低下による細胞への取り込み減少

FR からの輸送遅延

ABC ファミリートランスポーターによる排出の促進

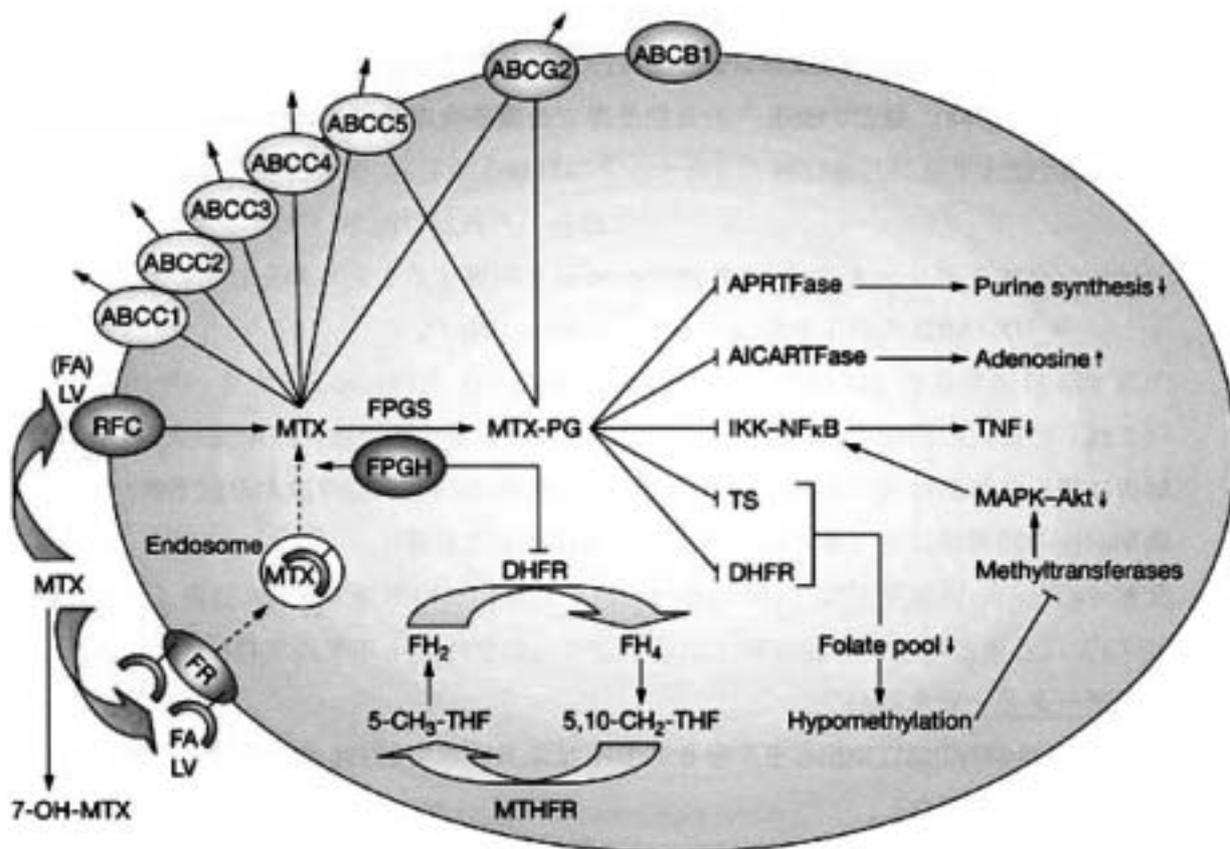
ポリグルタミン酸化の障害

標的酵素の変化 (DHFR の発現、活性の上昇。AICAR transformylase の活性上昇)

肝臓での不活性型 7 ヒドロキシ MTX への変換

など

(Gorlic 1997⁸、Hooijberg 1999⁹、Matherly 1995¹⁰、Rhee 1993¹¹、Dervieux 2004¹² など)



(図) MTX の作用点と薬剤耐性 (van der Heijden JW et al. Nat Clin Pract Rheumatol. 2007)¹³

その他の DMARD の薬剤耐性機構

② スルファサラジン (SASP)

van der Heijden (2004)¹⁴ : SASP 長期暴露で ABCG2 の発現が上昇する (SASP 排出亢進により SASP 抵抗性に)。さらに leflunomide、MTX の感受性も減弱する。

③ レフルノミド (LEF)

Loffler (2004)¹⁵ : 標的酵素であるジヒドロオレートデヒドロゲナーゼの発現が上昇する。そのためより高濃度のレフルノミドを反応に要する。

④ クロロキン

Oerlemans (2006)¹⁶ : ABCB1 (P-glycoprotein) の発現が上昇する。このクロロキン耐性は ABCB1 阻害剤の MK571 によって元に戻る。他の DMARD (MTX、LEF、CyA、SASP) への感受性には影響しないが、グルココルチコイドに対する抵抗性も獲得。

⑤ 金製剤 (gold sodium thiomarate : GST、オーラノフィン)

Ichibangase (1988)¹⁷ など : GST への長期暴露で金属結合タンパク metallothionein の上昇が誘導された。

(付) シクロスポリン A (CsA) は P-glycoprotein を阻害することが知られている。

→ DMARD の効果を増強する ? (Salmon 1996)¹⁸。

(これらの研究の問題点)

解析に用いる細胞は適切か？(生体内での主な標的細胞は未だにほとんど不明)

薬剤耐性の誘導法は？(多くは高濃度の薬剤存在下で培養) など

臨床データと一致するか？

Rodenhuis (1987)¹⁹: MTX 投与 RA 患者で DHFR 上昇が見られた。しかし、その発現量と治療効果には相関なし。

Wolf (2005)²⁰: RFC、MRP の発現と MTX の治療効果を調べた。それらをともに発現するか、ともに発現しない患者は MTX 反応性がよい。意義は不明。

Hider (2006)²¹: MTX 治療で ABCC1 発現はむしろ低下。

DMARD の効果減弱時の対応

臨床的効果減弱をもたらす薬剤耐性の機序が判明すれば、理論的にはそれを防ぐのが最も良いはず(薬剤排出トランスポーターの阻害薬の併用など)。

しかし悪性腫瘍の化学療法においても、現在のところこのアプローチはそれほど有効ではない様。(Szakacs 2006)²²

現時点での現実的対処法 → 増量、変更、追加併用療法

(DMARD 効果減弱例であっても特別変わりはない)

※初期 RA を対象としたものを除く、DMARD 治療効果の研究では、その研究対象患者のほとんどが、当然なんらかの DMARD の使用歴がある。

① 増量…特に MTX は効果にある程度の用量依存性あり。

(特殊な例)

Kapral (2006)²³: MTX 無効中止後、一旦他の DMARD を試し、その後再び MTX を使用しても効果あり。特に初回 MTX 量が少なかった場合に有効。

Lambert (2004)²⁴: MTX を経口から筋注にすると一部の患者で改善。

Wegrzyn (2004)²⁵: MTX を筋注から経口にすると悪化。再び筋注に戻すと改善 → MTX の吸収が悪い症例には筋注が有効？

② 変更

前述のデータ (Pincus 1992、Ortendahl 2000)^{5,6} で、DMARD の投与歴はいずれの DMARD の継続率にも悪影響を及ぼさない。→ いずれの DMARD も試してみる価値があることを示唆。

※ただし現在 MTX 未使用例では、ほとんどの場合 MTX が変更薬剤の第一選択と思われる。また MTX 効果不十分例では、可能ならば TNF- α 阻害療法が選択されている。

(Rau 1998)²⁶ DMARD 無効例の MTX 単独への切り替えと MTX 追加併用を比較 → 差なし → 切り替えで十分。

③ 追加・併用

一般的に(理論上は)異なる作用機序による相乗効果が期待される。しかし DMARD においては、その作用機序がまず明らかでないのが大きな問題。

(MTX 無効例、効果不十分例への DMARD 追加療法の代表例)**MTX + CyA (Tugwell 1995)²⁷**

ACR20 達成率：MTX + CyA は 48%、MTX 単独では 16% しかし CyA による腎機能障害が特に長期投与で問題となる。
Stein (1997)²⁸ : CyA 使用例は6ヶ月ごとに 25%が副作用中止。

MTX + LEF (Kremer 2002)²⁹

ACR20 達成率：MTX + LEF は 46%、MTX 単独では 19% ただし肝機能障害には注意が必要

MTX + SASP (MTX 無効例への追加療法のまとまった報告はない。併用療法のみ)

副作用の点では併用しやすい。しかし併用療法の有用性には一定の見解はない。

さらなる問題：MTX と SASP の相互作用

Jansen (2004)³⁰ : in vitro で SASP は RFC を介した MTX 取り込みを抑制する。→ 併用するなら投与時期は、ずらした方がよい？

DMARD 併用療法の有効性を疑問視する意見もある

例：Smolen (2005 A&R の review)³¹

"Superior efficacy of combination therapy for rheumatoid arthritis : fact or fiction?"

多くの研究はそのデザインに問題があり、追加薬剤単独の効果の可能性が除外できない。(例 MTX+CyA、MTX+LEF)。

研究によってはステロイドの影響が主に出ている可能性が強い (例 COBRA study)。ただし最近の生物製剤についての研究では DMARD の併用による効果増強が確実。

(最後に)

現在のところ DMARD の作用機序自体がほとんど不明であるため、それらの効果減弱機序の解明もすすまず、それに対する理論的対処法もないというのが現状。結局 RA の病因・病態の更なる解明が最も必要。

【文献】

- 1) Wolfe F, Hawley DJ, Cathey MA. Termination of slow acting antirheumatic therapy in rheumatoid arthritis : a 14-year prospective evaluation of 1017 consecutive starts. J Rheumatol. 1990 17 (8) : 994-1002.
- 2) Galindo-Rodriguez G, Avina-Zubieta JA, Russell AS, Suarez-Almazor ME. Disappointing longterm results with disease modifying antirheumatic drugs. A practice based study. J Rheumatol. 1999 26 (11) : 2337-43.
- 3) Nagashima M, Matsuoka T, Saitoh K, Koyama T, Kikuchi O, Yoshino S. Treatment continuation rate in relation to efficacy and toxicity in long-term therapy with low-dose methotrexate, sulfasalazine, and bucillamine in 1,358 Japanese patients with rheumatoid arthritis. Clin Exp Rheumatol. 2006 24 (3) : 260-7.
- 4) ten Wolde S, Breedveld FC, Hermans J, Vandenbroucke JP, van de Laar MA, Markusse HM, Janssen M, van den Brink HR, Dijkmans BA. Randomised placebo-controlled study of stopping second-line drugs in rheumatoid arthritis. Lancet. 1996 347 (8998) : 347-52.
- 5) Pincus T, Marcum SB, Callahan LF. Longterm drug therapy for rheumatoid arthritis in seven rheumatology private practices : II. Second line drugs and prednisone. J Rheumatol. 1992 19 (12) : 1885-94.
- 6) Ortendahl M, Schettler JD, Fries JF. Factors influencing length of time taking methotrexate in rheumatoid arthritis. J Rheumatol. 2000 27 (5) : 1139-47.
- 7) Maradit-Kremers H, Nicola PJ, Crowson CS, O'Fallon WM, Gabriel SE. Patient, disease, and therapy-related factors that influence discontinuation of disease-modifying antirheumatic drugs : a population-based incidence cohort of patients with rheumatoid arthritis. J Rheumatol. 2006 33 (2) : 248-55.
- 8) Gorlick R, Goker E, Trippett T, Steinherz P, Elisseyeff Y, Mazumdar M, Flintoff WF, Bertino JR. Defective transport is a common mechanism of acquired methotrexate resistance in acute lymphocytic leukemia and is associated with decreased reduced folate carrier expression. Blood. 1997 1 ; 89 (3) : 1013-8.
- 9) Hooijberg JH, Broxterman HJ, Kool M, Assaraf YG, Peters GJ, Noordhuis P, Scheper RJ, Borst P, Pinedo HM, Jansen G. Antifolate resistance mediated by the multidrug resistance proteins MRP1 and MRP2. Cancer Res. 1999 59 (11) : 2532-5.

- 10) Matherly LH, Taub JW, Ravindranath Y, Proefke SA, Wong SC, Gimotty P, Buck S, Wright JE, Rosowsky A. Elevated dihydrofolate reductase and impaired methotrexate transport as elements in methotrexate resistance in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 1995 85 (2) : 500-9.
- 11) Rhee MS, Wang Y, Nair MG, Galivan J. Acquisition of resistance to antifolates caused by enhanced gamma-glutamyl hydrolase activity. *Cancer Res*. 1993 53 (10 Suppl) : 2227-3.
- 12) Dervieux T, Furst D, Lein DO, Capps R, Smith K, Walsh M, Kremer J. Polyglutamation of methotrexate with common polymorphisms in reduced folate carrier, aminoimidazole carboxamide ribonucleotide transformylase, and thymidylate synthase are associated with methotrexate effects in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2004 50 (9) : 2766-74.
- 13) van der Heijden JW, Dijkmans BA, Scheper RJ, Jansen G. Drug Insight : resistance to methotrexate and other disease-modifying antirheumatic drugs-from bench to bedside. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2007 3 (1) : 26-34.
- 14) van der Heijden J, de Jong MC, Dijkmans BA, Lems WF, Oerlemans R, Kathmann I, Scheffer GL, Scheper RJ, Assaraf YG, Jansen G. Acquired resistance of human T cells to sulfasalazine: stability of the resistant phenotype and sensitivity to non-related DMARDs. *Ann Rheum Dis*. 2004 63 (2) : 131-7.
- 15) Loffler M, Klein A, Hayek-Ouassini M, Knecht W, Konrad L. Dihydroorotate dehydrogenase mRNA and protein expression analysis in normal and drug-resistant cells. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 2004 23 (8-9) : 1281-5.
- 16) Oerlemans R, van der Heijden J, Vink J, Dijkmans BA, Kaspers GJ, Lems WF, Scheffer GL, Ifergan I, Scheper RJ, Cloos J, Assaraf YG, Jansen G. Acquired resistance to chloroquine in human CEM T cells is mediated by multidrug resistance-associated protein 1 and provokes high levels of cross-resistance to glucocorticoids. *Arthritis Rheum*. 2006 54 (2) : 557-68.
- 17) Ichibangase Y, Yamamoto M, Yasuda M, Houki N, Nobunaga M. Induction of drug resistance to gold sodium thiomalate in a monocyte cell line, THP-1. *Clin Rheumatol*. 1998 ; 17 (3) : 214-8.
- 18) Salmon SE, Dalton WS. Relevance of multidrug resistance to rheumatoid arthritis : development of a new therapeutic hypothesis. *J Rheumatol Suppl*. 1996 44 : 97-101.
- 19) Rodenhuis S, Kremer JM, Bertino JR. Increase of dihydrofolate reductase in peripheral blood lymphocytes of rheumatoid arthritis patients treated with low-dose oral methotrexate. *Arthritis Rheum*. 1987 30 (4) : 369-74.
- 20) Wolf J, Stranzl T, Filipits M, Pohl G, Pirker R, Leeb B, Smolen JS. Expression of resistance markers to methotrexate predicts clinical improvement in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2005 64 (4) : 564-8
- 21) Hider SL, Owen A, Hartkoorn R, Khoo S, Back D, Silman AJ, Bruce IN. Down regulation of multidrug resistance protein-1 expression in patients with early rheumatoid arthritis exposed to methotrexate as a first disease-modifying antirheumatic drug. *Ann Rheum Dis*. 2006 65 (10) : 1390-3.
- 22) Szakacs G, Paterson JK, Ludwig JA, Booth-Genthe C, Gottesman MM. Targeting multidrug resistance in cancer. *Nat Rev Drug Discov*. 2006 5 (3) : 219-34.
- 23) Kapral T, Stamm T, Machold KP, Montag K, Smolen JS, Aletaha D. Methotrexate in rheumatoid arthritis is frequently effective, even if re-employed after a previous failure. *Arthritis Res Ther*. 2006 ; 8 (2) : R46
- 24) Lambert CM, Sandhu S, Lochhead A, Hurst NP, McRorie E, Dhillon V. Dose escalation of parenteral methotrexate in active rheumatoid arthritis that has been unresponsive to conventional doses of methotrexate : a randomized, controlled trial. *Arthritis Rheum*. 2004 50 (2) : 364-71.
- 25) Wegrzyn J, Adeleine P, Miossec P. Better efficacy of methotrexate given by intramuscular injection than orally in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2004 63 (10) : 1232-4.
- 26) Rau R, Schleusser B, Herborn G, Karger T. Longterm combination therapy of refractory and destructive rheumatoid arthritis with methotrexate (MTX) and intramuscular gold or other disease modifying antirheumatic drugs compared to MTX monotherapy. *J Rheumatol*. 1998 25 (8) : 1485-92.
- 27) Tugwell P, Pincus T, Yocum D, Stein M, Gluck O, Kraag G, McKendry R, Tesser J, Baker P, Wells G. Combination therapy with cyclosporine and methotrexate in severe rheumatoid arthritis. The Methotrexate-Cyclosporine Combination Study Group. *N Engl J Med*. 1995 333 (3) : 137-41.
- 28) Stein CM, Pincus T, Yocum D, Tugwell P, Wells G, Gluck O, Kraag G, Torley H, Tesser J, McKendry R, Brooks RH. Combination treatment of severe rheumatoid arthritis with cyclosporine and methotrexate for forty-eight weeks : an open-label extension study. The Methotrexate-Cyclosporine Combination Study Group. *Arthritis Rheum*. 1997 40 (10) : 1843-51.
- 29) Kremer JM, Genovese MC, Cannon GW, Caldwell JR, Cush JJ, Furst DE, Luggen ME, Keystone E, Weisman MH, Bensen WM, Kaine JL, Ruderman EM, Coleman P, Curtis DL, Kopp EJ, Kantor SM, Waltuck J, Lindsley HB, Markenson JA, Strand V, Crawford B, Fernando I, Simpson K, Bathon JM. Concomitant leflunomide therapy in patients with active rheumatoid arthritis despite stable doses of methotrexate. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med*. 2002 5 ; 137 (9) : 726-33.
- 30) Jansen G, van der Heijden J, Oerlemans R, Lems WF, Ifergan I, Scheper RJ, Assaraf YG, Dijkmans BA. Sulfasalazine is a potent inhibitor of the reduced folate carrier : implications for combination therapies with methotrexate in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2004 50 (7) : 2130-9.
- 31) Smolen JS, Aletaha D, Keystone E. Superior efficacy of combination therapy for rheumatoid arthritis : fact or fiction? *Arthritis Rheum*. 2005 52 (10) : 2975-83.