

RA（関節リウマチ）のテーラーメイド治療はできるのか

生野 英祐 生野リウマチ整形外科クリニック

(2007年、第8回博多リウマチセミナー)

はじめに

患者に同じ薬剤を投与しても、その効果には個人差がみられ、有害事象の発現や重篤性も異なる。全ての患者に同じ薬剤を同じ用量で用いるのではなく、個々に適した治療法の選択をすることをテーラーメイド治療と呼ばれている。RAに対するテーラーメイド治療の可能性について、これまでに得られた知見をまとめ報告する。

薬理遺伝学的に

2001年にヒト遺伝子塩基配列の既往が発表された。遺伝子配列がどのような形質に関連するかの研究が進み、特定の疾患の有無、薬効の強弱、副作用の頻度などについて調べられている。

すべてのヒトが同じ遺伝子を持っているのではなく、異なる塩基配列をもつ遺伝子多型 (single nucleotide polymorphism : SNP : スニップ) があり、これをもとに薬剤の効果などの個体差が調べられている。この遺伝子群には薬物代謝関連酵素や薬物受容体、トランスポーターなどの薬物標的蛋白質の遺伝子が含まれている。

テーラーメイド医療はRAについていくつかの抗リウマチ薬との関連性を検討されている。抗リウマチ薬の特徴として、レスポンス・ノンレスポンスの存在することや、効果発現期・効果発現量における個体差がみられること、副作用の発現頻度や重篤度などがあげられる。薬物代謝の遺伝子多型は個体差が生じるひとつの原因と考えられる。

MTXに対するアプローチ

関節リウマチの anchor drug として MTX (メトトレキサート) が用いられている。その有効性は明らかであるが、ACRの20%改善度に基づけば効果は46~65%とばらつきがみられる。¹⁾ またMTXによる有害事象は少なくとも10~30%が有害事象のため中止せざるを得ない。このため薬剤コストは余りないが、汎用されているDMARDs (抗リウマチ薬)²⁾ 中でのモニタリングコストは最も高価である。MTXに限らず、SSZ (サルファサラジン) など他のDMARDsでも患者間で有効性に有意差が見られることや、有害事象が予測困難であることからスクリーニングは必須とされている。効果は高いが、コスト面に問題のある抗サイトカイン療法などのスクリーニング法の確立は、テーラーメイド医療の概念に適していると考えられる。

輸送体の研究としてRFC-1 (SLC19A1とも呼ばれる還元型葉酸担体-1) はMTXの細胞内への輸送について重要な役割を果たしている。RFC-1遺伝子の発現を低下させる遺伝子多型は不完全な輸送を生じさせる。最近の研究により見いだされた遺伝子多型として、RFC-1蛋白質の最初の膜貫通ドメイン (TMDI) のコドン27においてヒスチジンがアルギニンに置換されるG80A SNPがある。MTXの有効性との関連について臨床的に検討され、RA患者105例を対象とした研究で、薬剤に反応した症例80A/Aホモ接合体では野生型アレル(80G/G)と比べ有効性がより高く、良好な治療応答に関係していることが示唆されている。³⁾

MTXの細胞外への排泄はATP結合組織(ABC)を持つABC輸送体によって行われる。ABC B1遺伝子(ABCファミリー輸送体)の生成物であるP糖蛋白質については、MTXを含むDMARDsの代謝と関係することが報告されている。⁴⁾ ABC B1遺伝子は複数のSNPが同定され、これらのひとつにこの遺伝子のエクソン26におけるC3435T遺伝子多型がある。P糖蛋白質の高度の発現がMTX耐性のマーカーになることが示唆され⁵⁾⁶⁾、これに相反する結果も報告されている。⁷⁾ MTXの有効性とP糖蛋白質については、人種間に差がみられることなどから議論の余地を残すと考えられている(表1)。

表1 Pharmacogenetics of MTX transporters*

Gene	Polymorphism	Amino acid substitution in enzyme	Biochemical effects	Clinical effects	Reference
RFC-1	G80A	Histidine to arginine at codon 27	May affect transcriptional activity of RFC1 gene and MTX entry into cell	May affect response to MTX	Dervieux T. 2004
ABCB1	C3435T	No amino acid substitution	May affect MTX entry into cell	May affect response to MTX	Pawlik A. 2004

*MTX = methotrexate; RFC-1 = reduced folate carrier 1; ABCB1 = ATP binding cassette transporter B1.

Prabha Ranganathan. 2006

RA における MTX の有効性を評価する研究によると、MTX 薬物代謝関連酵素遺伝子は MTHFR と TYMS である。MTHFR 遺伝子では、2つの SNP すなわち C677T SNP は MTX の毒性に、A1298C SNP は MTX の有効性に関与する事が明らかになっている。⁸⁾ 臨床的研究で MTX 療法を受けている RA 患者 236 例を対象に C677T SNP が検討され、陽性症例では肝障害や脱毛などの有害事象により MTX が中止となる症例が多くみられた。この研究より C677T SNP が MTX 毒性、特に肝毒性のマーカーになり得ることが示唆された。⁹⁾ また、RA 患者 106 例を対象とした C677T SNP と A1298C SNP の研究では、A1298C SNP が認められた患者では陰性に比べ MTX の用量は少なく、CRP・血沈の改善が認められている¹⁰⁾ (表2)。

表2 Pharmacogenetics of MTHFR*

Gene	Polymorphism	Amino acid substitution in enzyme	Biochemical effects	Clinical effects	Reference
MTHFR	C677T	Alanine to valine	Thermolabile MTHFR with decreased activity; increased plasma homocysteine	May increase the following GI toxicity	Van Esde AE. 2001
MTHFR	A1298C	Glutamine to alanine	May decrease MTHFR activity and increase plasma homocysteine	May affect MTX efficacy	Urano W. 2002

*MTHFR = methylenetetrahydrofolate reductase; GI = gastrointestinal; MTX = methotrexate; RA = rheumatoid arthritis.

Prabha Ranganathan. 2006

TIMS は De novo チミジル酸合成における主要酵素で、発現が亢進すると MTX の有効性が低下し、TIMS 遺伝子の発現が低下すると MTX の個体の感受性が高まることが報告されている¹¹⁾ (表3)。

表3 MTX pathway pharmacogenetics

Gene	Role in MTX pathway	Polymorphism	Effects on gene product/enzyme	Postulated clinical effects	Reference
GGH	Conversion of long-chain MTXPGs to short-chain MTXPGs by removal of glutamates	C452T	Decreased binding affinity of GGH for MTXPGs	May affect MTX efficacy	Cheng Q. 2004
		C401T	Affects MTXPG levels	—	Dervieux T. 2004
DHFR	Reduction of DHF to THF; target of MTX	3'-UTR T721A and C829T	May increase DHFR expression	May affect MTX efficacy	Goto Y. 2001
MS	Methylation of homocysteine to methionine	A2756G	May decrease MS activity; increase homocysteine levels	May affect MTX toxicity	Harman DL. 1999
MTRR	Methylation of cobalamin cofactor required for the action of MS	A66G	May decrease MTRR activity; increase homocysteine levels	May affect MTX toxicity	Goughan DJ. 2010

*MTX = methotrexate; GGH = γ -glutamyl hydrolase; MTXPGs = methotrexate polyglutamates; DHFR = dihydrofolate reductase; DHF = dihydrofolate; THF = tetrahydrofolate; 3'-UTR = 3'-untranslated region; MS = methionine synthase; MTRR = methionine synthase reductase.

Prabha Ranganathan. 2006

この他にも MTX 薬理経路に関する他の遺伝子における遺伝子多型として GGH (C452T)・DHFR (3'-UTR T721A and C829T)・MS (A66G)・MTRR (A2756G) など報告があり、リスクのある組み合わせを持つ患者においては有害事象の発現リスクの高いことが示唆されている¹²⁾(表4)。

表4 Other genes with potential pharmacogenetic implications in the MTX pathway*

Gene	Role in MTX pathway	Polymorphism	Effects on gene product/enzyme	Postulated clinical effects	Reference
GGH	Conversion of long-chain MTXPGs to short-chain MTXPGs by removal of glutamates	C452T	Decreased binding affinity of GGH for MTXPGs	May affect MTX efficacy	Cheng Q. 2004
		C401T	Affects MTXPG levels	—	Dervieux T. 2004
DHFR	Reduction of DHF to THF, target of MTX	3'-UTR T721A and C829T	May increase DHFR expression	May affect MTX efficacy	Goia Y. 2001
MS	Methylation of homocysteine to methionine	A2756G	May decrease MS activity; increase homocysteine levels	May affect MTX toxicity	Harmen DL. 1999
MTRR	Methylation of cobalamin cofactor required for the action of MS	A66G	May decrease MTRR activity; increase homocysteine levels	May affect MTX toxicity	Gaughan DJ. 2010

*MTX = methotrexate; GGH = γ -glutamyl hydrolase; MTXPGs = methotrexate polyglutamates; DHFR = dihydrofolate reductase; DHF = dihydrofolate; THF = tetrahydrofolate; 3'-UTR = 3'-untranslated region; MS = methionine synthase; MTRR = methionine synthase reductase.

Prabha Ranganathan. 2006

SSZ に対するアプローチ

SSZ (サルファサラジン) については、この薬剤の代謝に関連する酵素である NAT2 (N-acetyltransferase 2) に対するアプローチが進められている。この酵素には fast acetylator と slow acetylator の2種の phenotype (表現型) が知られている。臨床的研究として SSZ を投与された RA 患者の NAT2 遺伝子を調べ、副作用との関連について検討・報告されている¹³⁾¹⁴⁾が、144 例中 fast acetylator は 136 例で、副作用は 11 例、8.1%に認められ、slow acetylator は 8 例中 5 例、62.5%に副作用を認めた。すなわちこの報告で副作用は slow acetylator に有意に高頻度であると結論づけている(図1)。後述する TAC (タクロリムス) の項で田中らが P-糖蛋白質に関する研究により SSZ の2次性不応答や、効果持続期間が短い事に関連付けた報告をしている。しかし、臨床的な報告や他の異なる結果もあり、今後の研究が期待される。

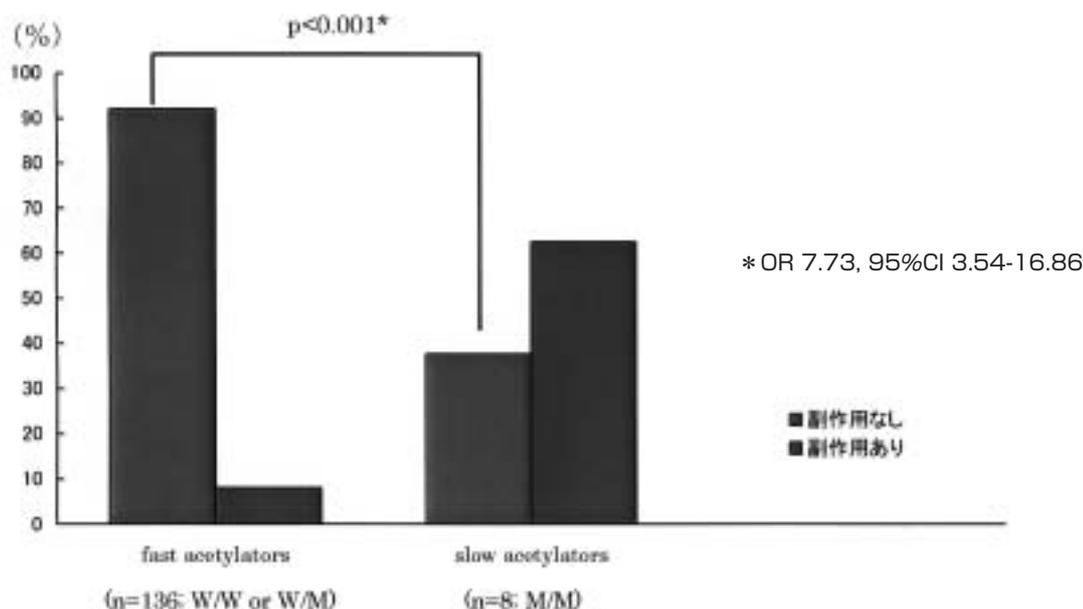


図1 NAT-2 遺伝子ディプロタイプ形と SSZ 副作用

Tanaka E. 2002

生物学的製剤に対するアプローチ

今日DMARDs の不応症例や、早期から用いることにより関節破壊を抑制する効果から近年抗サイトカイン療法が用いられるようになったが、数種に及ぶ薬剤の選択やコスト面、有効性や結核などの有害事象が問題となっている。本邦では竹内ら厚生労働省研究班により生物学的製剤を投与するにあたり、RA における薬物療法のテーラーメイド化を確立する事が研究され¹⁵⁾、RA 関連遺伝子の民族差と日本人での検証について報告している。欧米人でRA に関連すると報告があるPDCD1・PTPN22、さらにSLC22A・SLC22A5 の完全連鎖ハプロタイプと変異は日本人では全く存在しないことを報告している。彼らが発見した遺伝子多型PAD14 については、欧州でのハプロタイプ頻度はほぼ同じであったが、イギリス人ではPAD14 のRA 感受性ハプロタイプは、RA でやや多い傾向であるが有意ではなかった。結論としてdata の蓄積の必要性を示唆している。また、このグループは網羅的発現解析アプローチとして独自に開発したマイクロアレイ解析を用い、有効性について検討している。インフリキシマブ投与後、発現変動の推移について750 遺伝子の発現レベルをモニターし、15%の遺伝子が発現変動することが観察された。しかし、全ての症例に共通した発現変動遺伝子は存在しなかった。ACR50 満足群と非満足群の2群で発現変動パターンが異なる遺伝子の存在を明らかにし、効果不十分群に比し、有効群で発現低下した遺伝子18個を発見。そのトップ10はいずれもインターフェロン関連遺伝子であることを示した。この結果から、インフリキシマブ投与前・投与2週後の2ポイントで抹消血サンプルを採取し、インターフェロン関連遺伝子などに着目。発現低下パターンを解析することによって30週後の有効・無効を予測できる可能性を示唆した。詳細な報告が待たれるが、2006年10月30日付けの日本経済新聞紙上で竹内らのグループは、これら遺伝子についての研究により8個程にしばられたことを発表している。

タクロリムスなどに対するアプローチ

多剤耐性遺伝子MDR-1 がコードする細胞膜P-糖蛋白質は、薬物投与時に発現し細胞内薬物を細胞外に能動排出して治療抵抗性を起こすことが知られている。特異的転写因子YB-1 を抗体で染色し、フローサイトメトリーを用いてRA 患者の抹消血リンパ球における細胞表面のP-糖蛋白質について検討された。この結果、RA 患者リンパ球に発現するP-糖蛋白質はDMARDs 二次無効(エスケープ現象)に関与し、ステロイド・抗マラリヤ薬・サラゾピリン・シクロスポリン・コルヒチンなどは、P-糖蛋白質と融合して薬物耐性に陥りやすい一方、MTX・アザチオプリン・シクロホスファミドはP-糖蛋白質と融合せず、長期連用して抵抗性を獲得し難い薬剤である可能性を示唆している¹⁶⁾¹⁷⁾(表5)。P-糖蛋白質は健常人で発現しない。RA などP-糖蛋白質が高発現するリンパ球ではステロイド薬の細胞外薬の細胞外排出が亢進し、そのリンパ球をシクロスポリンやタクロリムスで処理すると、ステロイドの細胞外排出は阻害されたと報告している。¹⁸⁾しかし、これらの知見については他の研究で異なる報告もなされており更なる検討が望まれる。

表5 免疫抑制薬・抗リウマチ薬とP-糖蛋白質との関連性

薬 剤	P-糖蛋白質によって細胞外に排出される	P-糖蛋白質による薬剤排出阻害作用を有する
ステロイド薬 (自験)	○	不明
シクロスポリン (自験)	○	○
アクタリット (自験)	NO	不明
メトトレキサート	NO	NO
シクロホスファミド	NO	NO
アザチオプリン	NO	NO
抗マラリヤ薬	○	○
サラゾスルファピリジン	○	不明
コルヒチン	○	NO

田中良哉, 2002

結語

関節リウマチにおける薬剤の有効性の向上、有害事象、個々の患者における個別化治療（テーラーメイド治療）の可能性について、現在行われているアプローチを遺伝子解析を中心にまとめて述べた。MTX については、RFC-1 や ABC B1 などの輸送体における遺伝子（G80A、G3435T）の変異は、RA における治療応答に影響を与えること、細胞薬理経路に關与する遺伝子 MTHFR（C677T、A1298C）が薬効・有害事象に關与する事、ATIC（C347G）や TYMS・GGH（C452T）・DHFR（C401T）・MS（A2756G）・MMRR（A66G）など有望な候補となる遺伝子が見つかり、今後さらなる研究結果を期待したい。SSZ や生物学的製剤、TAC についても同様に、再現性があり臨床的結果を伴う研究結果が望まれる。

【文献】

- 1) Bathon JM, Martin RW, Fleischmann RM, et al : A comparison of etanercept and methotrexate in patients with early rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 343 : 1586-93, 2000.
- 2) 生野 英祐 : メトトレキサート2mg錠(メトレト錠2mg)の使用経験. *新薬と臨床*54(10) : 86-94, 2006.
- 3) Dervieux T, Furst D, Lein DO, et al : Polyglutamation of methotrexate with common polymorphisms in reduced folate carrier, aminomidazole carboxamide ribonucleotide transformylase, and thymidylate synthase are associated with methotrexate effects in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 50 : 2766-2774, 2004.
- 4) Pawlik A, Wrzesniewska J, Fiedorowicz-Fabrycy I, et al : The MDR1 3435 polymorphism in patients with rheumatoid arthritis. *Intl J Clin Pharmacol Ther* 42 : 496-503, 2004.
- 5) Norris MD, de Graaf D, Haber M, et al : Involvement of MDR1 P-glycoprotein in multifactorial resistance to methotrexate. *Intl J Cancer* 65 : 613-619, 1996.
- 6) Pawlik A, Wrzesniewska J, Fiedorowicz-Fabrycy I, et al : The MDR1 3435 polymorphism in patients with rheumatoid arthritis. *Intl J Clin Pharmacol Ther* 42 : 496-503, 2004.
- 7) Hider SL, Morgan C, Bell E, et al : Will pharmacogenetics allow better prediction of methotrexate toxicity and efficacy in patients with rheumatoid arthritis? *Ann Rheum Dis* 62 : 591-592, 2003.
- 8) Haagsma CJ, Blom HJ, van Riel PL, et al : Influence of both on plasma homocysteine concentrations in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 58 : 79-84, 1999.
- 9) Van Ede AE, Laan RF, Blom HJ, et al : The C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate gene: a genetic risk factor for methotrexate-related elevation of liver enzymes in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum* 44 : 2525-2530, 2001.
- 10) Urano W, Taniguchi A, Yamanaka H, et al : Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene were associated with both the efficacy and the toxicity of methotrexate used for the treatment of rheumatoid arthritis, as evidenced by single locus and haplotype analyses. *Pharmacogenetics* 12 : 183-190, 2002.
- 11) Kumagai K, Hiyama K, Oyama T, et al : Polymorphisms in the thymidylate synthase and methylenetetrahydrofolate reductase genes and sensitivity to the low-dose methotrexate therapy in patients with rheumatoid arthritis. *Intl J Mol Med* 11 : 593-600, 2003.
- 12) Prabha Ranganathan, Howard L Mcleod : Methotrexate pharmacogenetics the first step toward individualized therapy in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 54 : 1366-1377, 2006.
- 13) Tanaka E : Adverse effects of sulfasalazine in patient with rheumatoid arthritis are associated with diplotye configuration at the N-acetyltransferase 2 gene. *J Rheumatol* 29 : 2492-2449, 2002.
- 14) 谷口 敦夫, 鎌谷 直之 : テーラーメイド医療とゲノム創薬. *日本臨床*63 : 686-690, 2005.
- 15) 竹内 勤 他 : 厚生労働科学研究費補助金総括報告書.
- 16) Lazarou J, et al : Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients a meta-analysis of prospective studies. *JAMA* 279 : 1200-1205, 1998.
- 17) 田中 良哉, 辻村 静代 : シクロスポリン療法の理論と実際. *日本臨床*60 : 2345-2350, 2002.
- 18) 田中 良哉 : シクロスポリンとタクロリムス. *最新医学*60 : 371-378, 2005.