



Methotrexate-associated lymphoproliferative disorders: management by watchful waiting and observation of early lymphocyte recovery after methotrexate withdrawal

Inui, Yumiko

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2015-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第6455号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1006455>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(課程博士関係)

学位論文の内容要旨

**Methotrexate-associated lymphoproliferative disorders:
management by watchful waiting and observation of early
lymphocyte recovery after methotrexate withdrawal**

メトトレキサード関連リンパ増殖性疾患におけるメトトレキサード中止後の
リンパ球数回復と治療成績の関連

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻

腫瘍・血液内科学

(指導教員：南 博信 教授)

乾 由美子

メトトレキサート関連リンパ増殖性疾患におけるメトトレキサート中止後のリンパ球数回復と治療成績の関連

乾 由美子, 松岡 広, 薬師神 公和, 岡村 篤夫, 島田 貴, 矢野 真吾,
竹内 真衣, 伊藤 光宏, 村山 徹, 山本 克也, 伊藤 智雄, 相羽 恵介, 南 博信

1. 諸言

自己免疫疾患罹患患者では悪性リンパ腫の発症頻度が高いことが知られている。特に頻度が高いのが Rheumatoid arthritis (RA) 罹患患者に対する MTX 内服に関連するものである (以後、MTX 関連リンパ増殖性疾患; MTX-LPD) [1]。Rheumatoid arthritis (RA) 罹患患者では健常者と比しリンパ増殖性疾患 (LPD) 発症が 2~5.5 倍であると報告されている [2-6] が、その理由として原疾患や治療薬である免疫抑制剤による免疫不全に伴う Epstein-Barr virus (EBV) 等のウイルス再活性化 [7]、自己免疫・感染・慢性炎症による慢性的なサイトカイン放出の関与などが考えられている。

MTX-LPD では、背景にある自己免疫疾患やその活動性、治療歴など患者背景がまちまちであり、標準治療を確立されにくい。さらに、これまで、MTX を中止することにより MTX-LPD の縮小が得られることがしばしば報告されている [8-10] ことから、診断後、全例においてただちに化学療法を開始する訳にはいかない。MTX-LPD のうち、どのような症例で免疫抑制剤中止のみで治癒が見込めるのか、抗癌剤治療を行う際のタイミングや最適な治療レジメンは何か、などは定まっていないのが現状である。

そこで、本研究では、自己免疫疾患に対して MTX 使用中に悪性リンパ腫を発症した症例の患者背景、抗癌治療の頻度/開始時期、治療成績などについて後方視的解析を行い、MTX-LPD の化学療法適応予測因子、予後予測因子を探索することを目的とした。

2. 方法

神戸大学医学部附属病院および東京慈恵会医科大学において 2012 年 1 月から 2013 年 9 月までに iatrogenic immunodeficiency-associated lymphoproliferative disorder と診断された患者のうち、6 カ月以上の MTX 内服の既往を有する症例でかつ、リンパ腫発症時に MTX を使用していた症例について後方視的に解析した。対象とする症例は自己免疫疾患の治療として MTX を 6 か月以上使用している症例、リンパ腫発症時に MTX の投与を行っている症例、病理診断で悪性リンパ腫と診断されている症例とした。先天性免疫不全の症例、過去に抗癌剤治療を行った既往のある症例、後天性免疫不全症候群の症例、リンパ腫発症の 1 か月以上前に MTX 投与が中止されている症例は除外とした。選択規準に一致する症例の患者背景、治療経過及び治療成績について診療録を調査し情報収集を行った。

本研究に関するすべての研究者はヘルシンキ宣言に従って本研究を実施した。

3. 統計解析

単変量解析は T 検定、Mann-Whitney U 検定、Fisher 検定など適切な方法を用いた。すべての統計学的解析には NCSS software を使用した。

4. 結果

神戸大学医学部附属病院および東京慈恵医科大学附属病院にて、2005 年から 2012 年の間に 20 例の MTX 関連リンパ増殖性疾患が経験された。年齢の中央値は 70 歳

(range 53-77)と de novo の悪性リンパ腫より高齢であった。自己免疫疾患発症からリンパ増殖性疾患発症までの期間は中央値 105.5 か月 (range 27-360)、MTX 投与期間は中央値 48 か月 (range 12-132)、MTX 総投与量は中央値 1280 mg (range 288-7392)であった。リンパ増殖性疾患の初発部位は節性病変であるのが50%、節外病変である症例が50%であった。節外病変が有る症例は全体の60%であり、特に口腔内や咽頭など頭頸部に多い傾向が見られた。組織型は Diffuse large B-cell lymphoma を含む B-cell type が13例(65%)、T-cell type が2例(10%)、Hodgkin /Hodgkin-like lymphoma が5例(25%)であった。

MTX-LPD と EB ウイルスの関連については、EBER-ISH を用いて検査がされていた。20 症例中 13 例で EBER-ISH の検査が行われており、EBV 陽性が 5 例、陰性が 8 例であった。

MTX-LPD と診断された後、まずは自己免疫疾患の状態を見ながら MTX の中止がされた。MTX 中止にて 20 症例中 18 例(90%)でリンパ増殖性病変の縮小が得られた。MTX 中止にて腫瘍縮小が得られた 18 例のうち 9 症例が完全寛解と診断された(Group A)。CR 達成までの期間は中央値 16 週間 (range 2-76)であった。完全寛解に至った症例ではその後経過観察中に再発は認められず、リンパ増殖性疾患以外の原因で死亡した 2 症例をのぞき、全例が生存している。MTX 中止にて部分寛解を得たが完全寛解には至らなかった症例は 9 例であった (Group B)。腫瘍縮小が得られた症例 (Group A, B) を解析したところ、多くの症例で MTX 中止後早期に腫瘍縮小が始まっているも、15 症例中 13 症例ではその効果が最大となるには 8 週間以上要していることが分かった。MTX 中止にて腫瘍縮小が見られなかった 2 症例については悪性リンパ腫に準じて化学療法が施行され、いずれも完全寛解に到達している (Group C)。それぞれ、MTX 中止してから化学療法開始までは 19 日と 147 日であった。化学療法に踏み切った理由は“B 症状が激烈であった”、“MTX 中止後まったく病変の縮小がなかった”ということであった。経過観察中に再発はなく、2 症例とも生存している。

複数の症例で MTX 中止 2 週間後に疼痛の改善、解熱、腫瘍サイズの明らかな縮小など臨床効果の出現を経験した。これらの経験に基づき、MTX 中止後 2 週間の変化に注目し、病勢の指標として LDH や sIL-2R について解析をした。しかし LDH 値、sIL-2R いずれも治療効果予測因子とはならない結果であった ($p=0.81, 0.58$)。次に、発症時ならびに免疫抑制剤中止後早期 (MTX 中止後 2 週間、1 か月) の末梢血リンパ球数 (ALC) や IgG 値などの免疫学的プロファイルの変化に注目した。大部分の症例で MTX 中止 2 週間後から ALC の増加を認め、ALC は MTX 中止 1~3 か月後にピークに達していた。また、MTX 中止 1 か月後に腫瘍縮小が得られた患者では MTX 中止 2 週間後の ALC の増加数が有意に高かった ($p=0.001$)。末梢血 IgG 値については治療効果予測因子とはならない結果であった ($p=0.60$)

我々が実際に MTX-LPD の診療にあたる際、MTX 以外の免疫抑制剤、免疫調整剤を使用し続けた場合 MTX-LPD の治療成績はどうなるのか、という点も疑問であった。我々の症例では、20 症例中 13 例で MTX 中止後も自己免疫疾患に対して他の免疫抑制剤の継続を要した。使用された免疫抑制剤はプレドニンが最も多く、続いて免疫調整剤であるアザルフィジンが使用される症例が多かった。MTX 以外の抗リウマチ薬の使用継続をした群としなかった群を比較した場合、MTX 中止 2 週間後および 1 か月後の腫瘍縮小の有無は両群間に差はなかった ($p=0.50, 0.49$)。

5. 考察

この MTX-LPD についての後視的解析研究により、MTX 中止後の腫瘍縮小には考えられているよりも長い期間を要することがわかった。また我々は、MTX 中止後の ALC 回復が MTX 中止後の腫瘍縮小と関連している可能性、MTX 中止後 MTX 以外の抗リウマチ薬の使用を継続することの妥当性を示した。これらの結果より、MTX-LPD において、MTX 以外の抗リウマチ薬は必要に応じて使用しながら MTX 中止後早期の ALC

回復を観察しつつ watch and waiting することが適切なマネージメントにつながる可能性が示された。

これまでの報告から、MTX-LPD は MTX 中止にて腫瘍縮小することが知られており、Hoshida らは 25%の症例 (48 例中 11 例) が MTX 中止のみで縮小が得られたと報告している [3]。Niitu らは 29 症例中 6 症例が MTX 中止のみで寛解が得られ、寛解が得られた 6 人のうち、EBER 陽性は 4 人 (67%) であったと報告している [9]。我々の経験した症例では 20 例中、18 例が MTX 中止のみで腫瘍縮小がえられ、45%の症例は CR に到達した。既報の研究では MTX 中止後 8 週間以内に化学療法が導入される症例が多いのに対し、我々の症例では 8 週間以上化学療法を行わずに経過観察されている症例が多いことが、腫瘍縮小が得られる割合が多かった理由として考えられた。実際に、多くの症例で腫瘍縮小効果が最大になるまでに 8 週間以上の時間を要していた。これらのことより、MTX 中止後、より長期に注意深い watch and waiting を行うことが、治療反応率の改善、不必要な化学療法の施行の回避につながると考えられた。

MTX は dihydrofolate reductase (DHFR) や purine biosynthesis の抑制を介して activated T cells をアポトーシスさせる [11, 12]。MTX を使用した関節リウマチ患者、小児リンパ性白血病の長期観察にて、MTX がリンパ球数を減らすことが分かっている [13, 14]。今回、我々は MTX 中止後のリンパ球数の増加が良好である症例において良好な経過が得られることを発見した。急性骨髄性白血病、リンパ腫、乳がん、多発性骨髄腫などでは自家移植後 15 日目の ALC (ALC-15) が有意な独立した予後因子であることが報告されている [15-17]。Porrata らは非ホジキンリンパ腫の自家移植後に ALC-15 のみでなく、移植後 15 日目の NK 細胞数も予後因子になっていると報告した [17]。これらにより、自家リンパ球対腫瘍効果が存在する可能性が示された。同様に、我々の今回の研究でも ALC-15 は腫瘍縮小の予後因子となっている可能性があった。

MTX 中止後に増加した ALC が腫瘍縮小において果たす機序に関してはいくつかの可能性が考えられる。一般に、腫瘍成立のためには腫瘍細胞の免疫監視機構からのエスケープ現象が想定されているが、MTX 投与がエスケープ現象に寄与し、MTX 中止

によりエスケープ現象が終了し腫瘍に対する免疫応答が活発に生じた可能性がある。今後はどのような機能的リンパ球サブセットが増加したのか (CTL, Th1, 2, Th12, Treg)、あるいはどのような腫瘍特異抗原に対応する T 細胞レパトアが増加したのか、前向きに検証する必要がある。

カポジ肉腫では HHV-8 viral load を下げることにより、腫瘍縮小を来すことが知られている [18-20]。Adult T-cell leukemia/lymphoma (ATL) でも zidovudine (AZT) や interferon-alpha (IFN- α) などを用いて HTLV-1 量を低下させると腫瘍縮小に対する効果が得られることが報告されている [21, 22]。MTX-LPD においても、リンパ球増加により、腫瘍内における、あるいは、全身の、EBV viral load が低下し、これにより腫瘍縮小へ至っている可能性がある。

MTX-LPD の症例は高齢者が多く、背景に免疫不全が存在し、化学療法により重篤な有害事象が起こる可能性が考えられるため、不要な化学療法は避けたい。今後さらに研究を重ねることにより、MTX-LPD の適切な治療戦略の確立を目指したい。

結論として、今回の研究にて MTX-LPD において MTX 中止後早期のリンパ球数の推移が治療効果予測因子となる可能性が示唆された。また、MTX-LPD の適切なマネージメントとして MTX 以外の抗リウマチ薬の使用は許容されるかもしれないことがわかった。そして最後に、腫瘍免疫の活性化に基づき、MTX-LPD の腫瘍縮小には今まで考えられてきた以上に時間を要する可能性が示された。ALC 早期回復が予後に与える影響、適切な watch and waiting の期間については前向き試験にて証明する必要がある。

【引用文献】

1. Salliot, C. and D. van der Heijde. *Long-term safety of methotrexate monotherapy in patients with rheumatoid arthritis: a systematic literature research.* Ann Rheum Dis. 2009. 68 (7) : p. 1100-4.
2. Goldin, L.R. and O. Landgren. *Autoimmunity and lymphomagenesis.* Int J Cancer. 2009. 124 (7) : p. 1497-502.
3. Hoshida Y, X.J., Fujita S, Nakamichi I, Ikeda J, Tomita Y, Nakatsuka S, Tamaru J, Iizuka A, Takeuchi T, Aozasa K. *Lymphoproliferative disorders in rheumatoid arthritis: clinicopathological analysis of 76 cases in relation to methotrexate medication.* The Journal of Rheumatology. 2007. 34 (2) : p. 322-31.
4. Møller-Mikkelsen, L., et al., *Rheumatoid arthritis and cancer risk.* Eur J Cancer. 1996. 32a(10) : p. 1753-7.
5. Thomas, E., et al., *Risk of malignancy among patients with rheumatic conditions.* Int J Cancer. 2000. 88 (3) : p. 497-502.
6. Gridley, G., et al., *Incidence of cancer among patients with rheumatoid arthritis.* J Natl Cancer Inst. 1993. 85 (4) : p. 307-11.
7. Hsiao, S.C., et al., *EBV-associated diffuse large B-cell lymphoma in a psoriatic treated with methotrexate.* Pathol Res Pract. 2009. 205 (1) : p. 43-9.
8. Salloum, E., et al., *Spontaneous regression of lymphoproliferative disorders in patients treated with methotrexate for rheumatoid arthritis and other rheumatic diseases.* J Clin Oncol. 1996. 14 (6) : p. 1943-9.
9. Niitsu, N., et al., *Clinicopathologic correlations of diffuse large B-cell lymphoma in rheumatoid arthritis patients treated with methotrexate.* Cancer Sci. 2010. 101 (5) : p. 1309-13.
10. Miyazaki, T., et al., *Remission of lymphoma after withdrawal of methotrexate in rheumatoid arthritis: relationship with type of latent Epstein-Barr virus infection.* Am J Hematol. 2007. 82 (12) : p. 1106-9.
11. Ayako Nakajima, M.H., Hisashi Yamanaka, Naoyuki Kamatani, Sadao Kashiwazaki. *Methotrexate (MTX) induces apoptosis in activated T cells.* Arthritis and Rheumatism. 1995. 38: p. S192.
12. Fairbanks, L.D., et al., *Methotrexate inhibits the first committed step of purine biosynthesis in mitogen-stimulated human T-lymphocytes: a metabolic basis for efficacy in rheumatoid arthritis?* Biochem J. 1999. 342 (Pt 1) : p. 143-52.
13. Weinblatt, M.E., et al., *Long-term prospective trial of low-dose methotrexate in rheumatoid arthritis.* Arthritis Rheum. 1988. 31 (2) : p. 167-75.
14. O'Meara, A. B. Headon, and D.J. Reen. *Effect of methotrexate on the immune response in children with acute lymphatic leukaemia.* Immunopharmacology. 1985. 9 (1) : p. 33-8.
15. Porrata, L.F., et al., *Early lymphocyte recovery predicts superior survival after autologous hematopoietic stem cell transplantation in multiple myeloma or non-Hodgkin lymphoma.* Blood. 2001. 98 (3) : p. 579-85.
16. Porrata, L.F., et al., *Prolonged survival associated with early lymphocyte recovery after autologous hematopoietic stem cell transplantation for patients with metastatic breast cancer.* Bone Marrow Transplant. 2001. 28 (9) : p. 865-71.
17. Porrata, L.F., et al., *Early lymphocyte recovery predicts superior survival after autologous stem cell transplantation in non-Hodgkin lymphoma: a prospective study.* Biol Blood Marrow Transplant. 2008. 14 (7) : p. 807-16.
18. Lallemand, F., et al., *Quantitative analysis of human herpesvirus 8 viral load using a real-time PCR assay.* J Clin Microbiol. 2000. 38 (4) : p. 1404-8.
19. Tedeschi, R., et al., *Viral Load of Human Herpesvirus 8 in Peripheral Blood of Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients with Kaposi's Sarcoma.* Journal of Clinical Microbiology. 2001. 39 (12) : p. 4269-4273.
20. Polstra, A.M., et al., *Human Herpesvirus 8 Load in Matched Serum and Plasma Samples of Patients with AIDS-Associated Kaposi's Sarcoma.* Journal of Clinical Microbiology. 2003. 41 (12) : p. 5488-5491.
21. Kinpara, S., et al., *Interferon-alpha (IFN-alpha) suppresses HTLV-1 gene expression and cell cycling, while IFN-alpha combined with zidovudine induces p53 signaling and apoptosis in HTLV-1-infected cells.* Retrovirology. 2013. 10: p. 52.
22. Bazarbachi, A., et al., *Evidence against a direct cytotoxic effect of alpha interferon and zidovudine in HTLV-1 associated adult T cell leukemia/lymphoma.* Leukemia. 2000. 14 (4) : p. 716-21.

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 2 5 1 9 号	氏 名	乾 由美子
論文題目 Title of Dissertation	<p>Methotrexate-associated lymphoproliferative disorders: management by watchful waiting and observation of early lymphocyte recovery after methotrexate withdrawal</p> <p>メトトレキセート関連リンパ増殖性疾患におけるメトトレキセート 中止後のリンパ球数回復と治療成績の関連</p>		
審査委員 Examiner	<p>主 査 佐々木 良平 Chief Examiner</p> <p>副 査 丹生 康一 Vice-examiner</p> <p>副 査 横崎 宏 Vice-examiner</p>		

(要旨は1,000字~2,000字程度)

諸言

自己免疫疾患罹患患者では悪性リンパ腫の発症頻度が高いことが知られている。特に頻度が高いのが Rheumatoid arthritis (RA) 罹患患者に対する MTX 内服に関連するものである(以後、MTX 関連リンパ増殖性疾患; MTX-LPD) [1]。Rheumatoid arthritis (RA) 罹患患者では健常者と比しリンパ増殖性疾患 (LPD) 発症が 2~5.5 倍であると報告されている。

そこで、本研究では、自己免疫疾患に対して MTX 使用中に悪性リンパ腫を発症した症例の患者背景、抗癌治療の頻度/開始時期、治療成績などについて後方視的解析を行い、MTX-LPD の化学療法適応予測因子、予後予測因子を探索することを目的とした。

方法

神戸大学医学部附属病院および東京慈恵会医科大学において 2012 年 1 月から 2013 年 9 月までに iatrogenic immunodeficiency-associated lymphoproliferative disorder と診断された患者のうち、6 カ月以上の MTX 内服の既往を有する症例でかつ、リンパ腫発症時に MTX を使用していた症例について後方視的に解析した。対象とする症例は自己免疫疾患の治療として MTX を 6 カ月以上使用している症例、リンパ腫発症時に MTX の投与を行っている症例、病理診断で悪性リンパ腫と診断されている症例とした。先天性免疫不全の症例、過去に抗癌剤治療を行った既往のある症例、後天性免疫不全症候群の症例、リンパ腫発症の 1 カ月以上前に MTX 投与が中止されている症例は除外とした。選択規準に一致する症例の患者背景、治療経過及び治療成績について診療録を調査し情報収集を行った。

結果

神戸大学医学部附属病院および東京慈恵医科大学附属病院にて、2005 年から 2012 年の間に 20 例の MTX 関連リンパ増殖性疾患が経験された。年齢の中央値は 70 歳 (range 53-77) と de novo の悪性リンパ腫より高齢であった。自己免疫疾患発症からリンパ増殖性疾患発症までの期間は中央値 105.5 か月 (range 27-360)、MTX 投与期間は中央値 48 か月 (range 12-132)、MTX 総投与量は中央値 1280 mg (range 288-7392) であった。リンパ増殖性疾患の初発部位は節性病変であるのが 50%、節外病変である症例が 50% であった。節外病変が有る症例は全体の 60% であり、特に口腔内や咽頭など頭頸部に多い傾向が見られた。組織型は Diffuse large B-cell lymphoma を含む B-cell type が 13 例 (65%)、T-cell type が 2 例 (10%)、Hodgkin /Hodgkin-like lymphoma が 5 例 (25%) であった。

MTX-LPD と EB ウイルスの関連については、EBER-ISH を用いて検査がされていた。20 症例中 13 例で EBER-ISH の検査が行われており、EBV 陽性が 5 例、陰性が 8 例であった。

MTX-LPD と診断された後、まずは自己免疫疾患の状態を見ながら MTX の中止がされた。MTX 中止にて 20 症例中 18 例 (90%) でリンパ増殖性病変の縮小が得られた。MTX 中止にて腫瘍縮小が得られた 18 例のうち 9 症例が完全寛解と診断された (Group A)。CR 達成までの期間は中央値 16 週間 (range 2-76) であった。完全寛解に至った症例ではその後経過観察中に再発は認められず、リンパ増殖性疾患以外の原因で死亡した 2 症例をのぞき、全例が生きている。MTX 中止にて部分寛解を得たが完全寛解には至らなかった症例は 9 例であった (Group B)。腫瘍縮小が得られた症例 (Group A, B) を解析したところ、多くの症例で MTX 中止後早期に腫瘍縮小が始まっているも、15 症例中 13 症例ではその効果が最大となるには 8 週間以上要していることが分かった。MTX 中止にて腫瘍縮小が見られなかった 2 症例については悪性リンパ腫に準じて化学療法が施行され、いずれも完全寛解に到達している (Group C)。それぞれ、MTX 中止してから化学療法開始までは 19 日と 147 日であった。化学療法に踏み切った理由は “B 症状が激烈であった”、“MTX 中止後まったく病変の縮小がなかった” ということであった。経過観察中に再発はなく、2 症例とも生存している。

5. 考察

この MTX-LPD についての後視的解析研究により、MTX 中止後の腫瘍縮小には考えられているよりも長い期間を要することがわかった。また我々は、MTX 中止後の ALC 回復が MTX 中止後の腫瘍縮小と関連している可能性、MTX 中止後 MTX 以外の抗リウマチ薬の使用を継続することの妥当性を示した。これらの結果より、MTX-LPD において、MTX 以外の抗リウマチ薬は必要に応じて使用しながら MTX 中止後早期の ALC 回復を観察しつつ watch and waiting することが適切なマネジメントにつながる可能性が示された。

MTX-LPD の症例は高齢者が多く、背景に免疫不全が存在し、化学療法により重篤な有害事象が起こる可能性が考えられるため、不要な化学療法は避けたい。今後さらに研究を重ねることにより、MTX-LPD の適切な治療戦略の確立を目指したい。

【結論】

今回の研究にて MTX-LPD において MTX 中止後早期のリンパ球数の推移が治療効果予測因子となる可能性が示唆された。また、MTX-LPD の適切なマネジメントとして MTX 以外の抗リウマチ薬の使用は許容されるかもしれないことがわかった。そして最後に、腫瘍免疫の活性化に基づき、MTX-LPD の腫瘍縮小には今まで考えられてきた以上に時間を要する可能性が示された。ALC 早期回復が予後に与える影響、適切な watch and waiting の期間については前向き試験にて証明する必要がある。

よって、本研究者は博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。