






TRANSLATIONAL SCIENCE

# Is methotrexate safe for men with an immune-mediated inflammatory disease and an active desire to become a father? Results of a prospective cohort study (iFAME-MTX)

Luis Fernando Perez-Garcia <sup>1</sup>, Esther Röder <sup>1</sup>, Bouwe P Krijthe,<sup>1,2</sup>  
Laura JC Kranenburg-van Koppen,<sup>1,3</sup> Roxanne van Adrichem,<sup>1</sup> Els Zirkzee,<sup>4</sup>  
Pieter H Griffioen <sup>5</sup>, Kris Peeters,<sup>6</sup> Marry Lin,<sup>7</sup> Eduard A Struys,<sup>7</sup> Gerrit Jansen,<sup>8</sup>  
Martijn BA van Doorn,<sup>9</sup> Robert de Jonge,<sup>7</sup> Gert R Dohle,<sup>10</sup> Radboud JEM Dolhain<sup>1</sup>

*Ann Rheum Dis* 2023;82:1068-1075



\*2022年10月改訂（第2版）

2022年6月改訂

貯 法：室温保存

有効期間：3年

劇薬、処方箋医薬品<sup>注)</sup>

抗リウマチ剤  
日本薬局方 メトトレキサートカプセル  
**リウマトレックス<sup>®</sup>カプセル2mg**  
RHEUMATREX<sup>®</sup> CAPSULES 2mg

注) 注意－医師等の処方箋により使用すること

015

日本標準商品分類番号

873999

承認番号 21100AMZ00247

販売開始 1999年8月

## 9.4 生殖能を有する者

- 9.4.1 妊娠する可能性のある女性に投与する場合は、投与中及び投与終了後少なくとも1月経周期は妊娠を避けるよう注意を与えること。
- 男性に投与する場合は、投与中及び投与終了後少なくとも3ヵ月間は配偶者が妊娠を避けるよう注意を与えること。

**Joint American Academy of Dermatology–National Psoriasis Foundation guidelines of care for the management of psoriasis with systemic nonbiologic therapies**

**2020 American College of Rheumatology Guideline for the Management of Reproductive Health in Rheumatic and Musculoskeletal Diseases**

**Table 2.** Recommendations regarding medication use for men with rheumatic and musculoskeletal disease who are planning to father a child

Strongly recommend continuing	Conditionally recommend continuing	Strongly recommend discontinuing	Conditionally recommend discontinuing	Unable to make a recommendation due to limited data
Azathioprine/ 6-mercaptopurine Colchicine Hydroxychloroquine Tumor necrosis factor inhibitors (all)	Anakinra Cyclooxygenase 2 inhibitors Cyclosporine Leflunomide <b>Methotrexate</b> Mycophenolate mofetil Mycophenolic acid Nonsteroidal anti-inflammatory drugs Rituximab Sulfasalazine (semen analysis if delayed conception) Tacrolimus	Cyclophosphamide (discontinue 12 weeks prior to attempted conception)	Thalidomide (discontinue 4 weeks prior to attempted conception)	Abatacept Apremilast Baricitinib Belimumab Secukinumab Tocilizumab Tofacitinib Ustekinumab

**Male fertility.** Although methotrexate is not mutagenic, findings are conflicting about whether it affects spermatogenesis.<sup>61</sup> Some studies have demonstrated reversible oligospermia in men taking methotrexate, whereas others have found no changes in sperm count.<sup>62-64</sup> Data are lacking regarding the teratogenicity of methotrexate when used by the father. Given the mixed data and level of uncertainty, it is reasonable for men to wait 3 months after discontinuing the medication before attempting to father a child, because the average cycle of spermatogenesis lasts 74 days, and the presumed effects of methotrexate on the sperm should theoretically be cleared by that time.

## Original article

**No evidence for an increased risk of adverse pregnancy outcome after paternal low-dose methotrexate: an observational cohort study**

- 前向き観察研究
- 少量MTX使用中の男性が父親の妊娠113名と非使用の妊娠412名を比較
- 重大な先天異常も自然流産も有意差なし

**TABLE 2** Pregnancy outcome by cohort<sup>a</sup>

	MTX, <i>n</i> (%)	Comparison, <i>n</i> (%)
Pregnancies	113	412
ETOPs	11 (9.7)	21 <sup>b</sup> (5.1)
ETOP voluntary	8	17
ETOP maternal reasons	1	1
ETOP fetal complications	2	2
SAB (percentage after exclusion of ETOPs)	15 (14.7)	40 (10.2) <sup>c</sup>
Stillborn infants	0	3
Live births	87 (77.0)	349 (84.7)
Live-born children	87	359 <sup>d</sup>

<sup>a</sup>Percentages are crude rates. <sup>b</sup>One ETOP for unknown reasons. <sup>c</sup>Including one SAB in a twin pregnancy with one live-born child. <sup>d</sup>Including 10 twins. ETOP: elective termination of pregnancy; SAB: spontaneous abortion.

**TABLE 4** Birth defect rates

Birth defect	MTX cohort, <i>n</i> (%)	Comparison, <i>n</i> (%)	Odds ratio (95% CI)
All	6/89 <sup>a</sup> (6.7)	24/361 <sup>a</sup> (6.6)	1.02 (0.4, 2.5)
Major	1/88 <sup>b</sup> (1.1)	4/359 (1.1)	1.02 (0.16, 6.57)
Chromosomal aberrations ( <i>de novo</i> )	1/88 <sup>b</sup> (1.1)	2/361 <sup>a</sup> (0.55)	2.06 (0.27, 15.8)
Minor	4/87 (4.6)	18/359 (5.0)	0.91 (0.3, 2.6)

<sup>a</sup>Including two elective terminations of pregnancy (ETOPs). <sup>b</sup>Including one ETOP.

# 目的

免疫介在性炎症性疾患(IMID)に罹患しており挙児希望がある男性に対して、MTXが安全に使用できるかを評価する。

# 研究デザイン

オランダ、ロッテルダムのErasmus University Medical Centerで実施された前向きコホート試験

精液のパラメータやsperm DNA fragmentation index (sDFI)などによりMTXの精子毒性を評価

# 患者

- 以前に妊娠成立したことがある18～55歳の男性
- 以下の3群が研究に組み入れられた。
  - 1) “MTX開始群” IMID(RA, SpA, PsA, PsO)と診断され、過去1年間にMTXに曝露されておらず、MTX治療を開始しようとしている男性
  - 2) “慢性MTX使用群” 1年以上、MTX  $\geq$  15mg/wを使用している男性
  - 3) “健常対照群”

# 除外基準

精子形成が障害される可能性があるとしてFDAで報告されている以下の薬剤使用があれば除外された

Table 1. Exclusion criteria

MTX-naive and MTX chronic	Healthy controls
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Age above 55 years.</li> <li>• Known infertility (Self-report).</li> <li>• Current use of drugs listed in Table 2.</li> <li>• Current sexually transmitted disease (Self-report).</li> <li>• Current lower urinary tract infection (Self-report).</li> <li>• Active infection with Hepatitis B or C virus (Self-report).</li> <li>• Human immunodeficiency virus (HIV) infection (Self-report).</li> <li>• Vasectomy.</li> <li>• Language barrier.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Age above 55 years.</li> <li>• Known infertility (Self-report).</li> <li>• Current or past use of Methotrexate.</li> <li>• Current use of any medication.</li> <li>• Current sexually transmitted disease (Self-report).</li> <li>• Current lower urinary tract infection (Self-report).</li> <li>• Active infection with Hepatitis B or C virus (Self-report).</li> <li>• Human immunodeficiency virus (HIV) infection (Self-report).</li> <li>• Vasectomy.</li> <li>• Language barrier.</li> </ul>

Methadone hydrochloride	Nitrofurantoin
Dapsone	Paroxetine
Fluvoxamine maleate	Nifedipine
Colchicine	Cortisone acetate
Dexamethasone	Methylprednisone
Prednisone (>7.5 mg/day)	Sulfasalazine
Triamcinolone hexacetonide	Busulfan
Chlorambucil	Cyclophosphamide
Dabrafenib	Degarelix
Fludarabine	Mercaptopurine
Procarbazine	Triptorelin
Vinblastine	Vinorelbine
Testosterone	

※PSL ≤ 7.5mg/d, HCQ, TNF阻害薬は許容された



# 検体

## - 血液

- ・ 9:00 – 11:00の時間帯に静脈血を採取
- ・ テストステロン, LH, FSH, インヒビンB, 性ホルモン結合グロブリン(SHBG), CRPを評価
- ・ 赤血球、PBMCsは規定のプロトコールで単離

## - 精液

- ・ 得られてから30分以内に量, 精子濃度と運動能、形態を評価
- ・ その後、さらなる解析のために処理

# 検体採取のタイミング

## - MTX開始群

- ・ MTX開始前とMTX開始から13週以上経過してからの2点

## - 慢性MTX使用群

- ・ ある1点の受診時

## - 健常対照群

- ・ ある1点の受診時

結果

**Table 1** Demographic characteristics

	MTX-naïve Pre-exposure (n=20)	MTX-naïve Post-exposure (n=18)	Healthy controls (n=25)	MTX chronic§ (n=5)	P value
<b>General information</b>					
Age years, mean (95% CI)	35.2 (31.4 to 39.1)		34.7 (32.9 to 36.7)	36.6 (32.1 to 41.1)	NS
Smoking, n (%)	4 (20)	4 (20)	6 (24)	1 (20)	NS
BMI %, mean (95% CI)	27.1 (24.8 to 29.2)	26.8 (24.5 to 29.1)	25.5 (24.2 to 26.8)	25.5 (21.4 to 29.6)	NS
Testicular volume, mean (95% CI)	22.9 (21.4 to 24.3)		22.6 (21.3 to 23.8)	22.6 (21.3 to 23.8)	NS
<b>Inflammatory arthritis</b>					
Diagnosis:					
RA, n (%)	7 (35.0)	6 (33.3)	-	2 (40.0)	
PsA, n (%)	8 (40.0)	7 (38.9)	-	1 (20.0)	
SpA, n (%)	1 (5.0)	1 (5.6)	-	2 (40.0)	
Psoriasis, n (%)	4 (20.0)	4 (22.2)	-	0 (0.0)	
Age at diagnosis, mean (SD)	27.4 (22.1–32.6)	28.5 (24.5–34.5)	–	30.3 (18.5–42.1)	
Disease duration, mean (SD)	6.9 (2.1–11.8)		-	5.6 (-5.5–16.8)	
MTX dose (mg/week), mean (95% CI)	–	16.0 (13.6 to 18.4)	–	18.3 (15.6 to 21.1)	
Prednisone exposure, n (%)	2 (10.0)	6 (33.3)	--	1 (20)	NS
TNFa inhibitor exposure, n (%)	3 (15.0)	5 (27.8)	--	2 (40)	NS
C reactive protein mg/dL, median (IQR)	2.1 (0.6–5.0)	1.4 (1.0–3.2)	0 (0.0–0.9)	1.1 (0–1.8)	* p=0.011 † p=0.008
<b>Disease activity scores</b>					
VAS general health mm, mean (95% CI)	42 (19 to 67)	20 (12 to 36)	17.7 (10.5 to 25.5)	20.20 (0.3 to 40.1)	* p=<0.001 ‡ p=0.008
VAS pain mm, mean (IQR)	42 (5.5–75)	14 (4–36)	--	11 (4–34)	
VAS activity mm, mean (IQR)	68 (51–78)	27 (16–49)	--	10 (4–52)	
RA: DAS28, mean (IQR)	2.7 (2.4–2.9)	2.55 (1.34–3.40)	--	2.3 (1.4–2.7)	
PsA: DAPSA, mean (IQR)	24.1 (20.5–33.3)	17.8 (11.2–22.7)	--	1.1 (1.1–1.1)	
Psoriasis: PASI, mean (IQR)	1.9 (1.3–5.1)	1.1 (0.7–3.1)	--	0.8 (0.3–1.2)	

# 従来の精液パラメータと精子形態

**Table 2** Conventional semen parameters and sperm morphology

	MTX-naïve Pre-exposure (n=20)	MTX-naïve Post-exposure (n=18)	Healthy controls (n=25)	MTX chronic* (n=5)	P value
<b>Conventional semen parameters</b>					
Sperm concentration $\times 10^6/\text{mL}$ , median (IQR)	57.0 (35.0–90.5)	54.0 (41.0–82.0)	60.0 (37.0–111.0)	37.0 (32.0–59.9)	NS
Progressive motility* %, mean (95% CI)	63.2 (55.4 to 70.9)	60.1 (49.5 to 70.6)	56.9 (51.1 to 62.8)	50.4 (34.8 to 65.9)	NS
Semen volume mL, median (IQR)	2.4 (1.6–3.2)	3.0 (1.5–3.2)	3.0 (2.0–4.0)	2.0 (1.6–2.4)	NS
<b>Sperm morphology evaluation</b>					
Normal morphology %, mean (95% CI)	6.4 (4.5 to 8.3)	7.1 (5.6 to 8.4)	6.3 (4.7 to 7.9)	5.9 (2.6 to 9.1)	NS
Teratozoospermia index, mean (95% CI)	1.2 (1.2 to 1.3)	1.3 (1.2 to 1.4)	1.2 (1.2 to 1.3)	1.2 (1.1 to 1.4)	NS
Excess residual cytoplasm, median (IQR)	2.0 (0.7–4.3)	2.0 (1.0–4.5)	2.0 (1.0–4.0)	2.0 (1.0–4.0)	NS
Abnormalities in head (%), mean (95% CI)	92.8 (90.8 to 94.7)	93.0 (91.2 to 94.6)	92.7 (91.0 to 94.3)	92.3 (88.0 to 96.5)	NS
Abnormalities in middle piece (%), mean (95% CI)	19.2 (14.2 to 24.1)	24.5 (18.6 to 30.2)	19.9 (15.3 to 24.5)	22.9 (5.7 to 40.0)	NS
Abnormalities in tail (%), mean (95% CI)	7.1 (3.8 to 10.5)	7.3 (3.7 to 11.1)	6.6 (3.9 to 9.3)	4.6 (1.4 to 7.7)	NS
*Presented only for descriptive purposes, no statistical analyses were conducted. MTX, methotrexate.					

MTX開始群と健常対照群との間に有意差なし

# Sperm DNA fragmentation index (sDFI)

- 精子DNAの損傷は男性不妊や流産のリスク増加と強く関連

**Table 3** Sperm DNA fragmentation index

	MTX-naïve Pre-exposure (n=20)	MTX-naïve Post-exposure (n=18)	Healthy controls (n=25)	MTX chronic* (n=5)	P value
Sperm DNA fragmentation index %, median (IQR)	24.3 (7.1–30.7)	13.1 (9.5–19.9)	13.5 (8.7–20.2)	13.5 (13.3–26.1)	NS

MTX開始群と健常対照群との間に有意差なし

# Male reproductive endocrine axis

**Table 4** Male reproductive endocrine axis

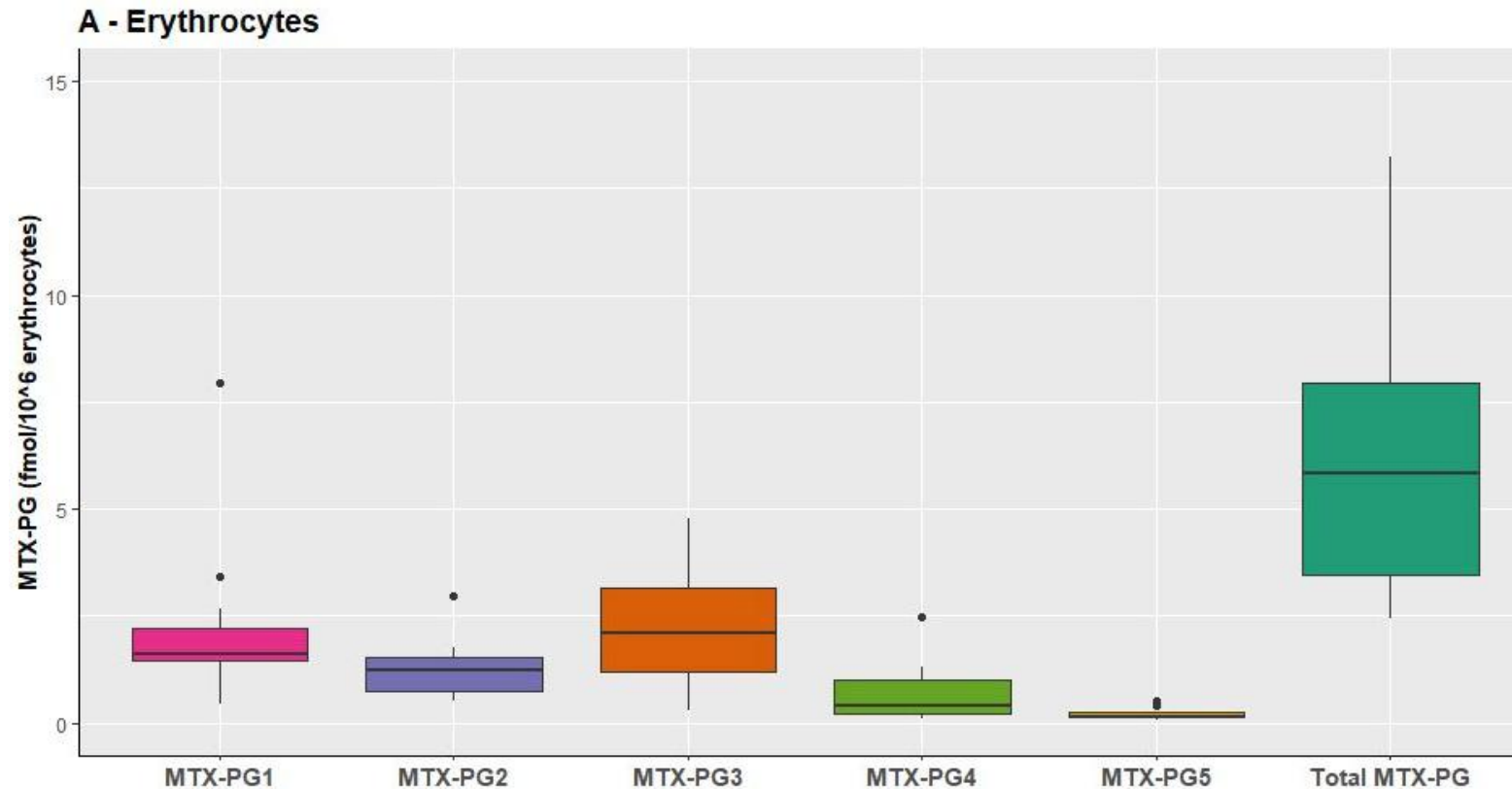
	MTX-naïve Pre-exposure (n=20)	MTX-naïve Post-exposure (n=18)	Healthy controls (n=25)	MTX chronic† (n=5)	P value
Testosterone (nmol/L) median (IQR)	14.6 (11.3–16.2)	13.4 (12.0–15.6)	14.1 (12.8–16.7)	16.3 (16.3–17.1)	NS
SHBG (nmol/L) median (IQR)	26.6 (22.6–34.6)	28.8 (22.5–34.6)	32.6 (25.7–41.9)	35.4 (34.1–38.7)	NS
LH (U/L) median (IQR)	3.1 (2.3–3.9)	2.7 (2.2–3.2)	2.9 (2.2–3.4)	4.10 (4.0–4.1)	NS
FSH (U/L) median (IQR)	4.6 (3.5–5.3)	4.2 (3.2–5.0)	3.7 (3.0–4.5)	4.1 (4.0–4.1)	NS
Inhibin B (ng/L) median (IQR)	132.5 (101.5–179.5)	123.0 (116.0–179.0)	189.0 (170.0–236.0)	92.2 (87.0–203.0)	* p=<0.001 p=<0.001

\*Statistically significant difference between pre-exposure and healthy controls.  
†Statistically significant difference between post-exposure and healthy controls.  
‡Presented only for descriptive purposes, no statistical analyses were conducted.  
FSH, follicle stimulating hormone; LH, luteinising hormone; MTX, methotrexate; SHBG, sex hormone binding globulin.

- テストステロン, SHBG, LH, FSH : MTX開始群と健常対照群との間に有意差なし
- インヒビンB : 健常対照群と比較して、MTX曝露前および曝露後患者で有意に低値

※インヒビンB : セルトリ細胞から産生される糖タンパク質。精原細胞数と関連、FSH刺激により分泌亢進、などの報告がある。精巣機能を反映する指標となるかもしれない。

# MTX-polyglutamate (MTX-PG) 定量化



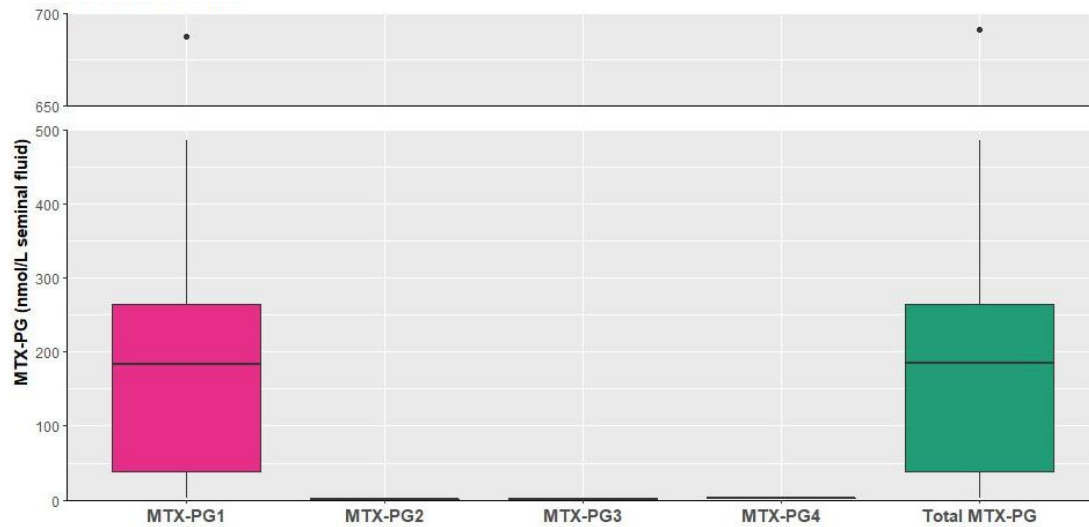
12週間以上MTXを使用している患者(n=17)の赤血球におけるMTX-PGの蓄積量

→ MTXをきちんと内服していることが確認できた



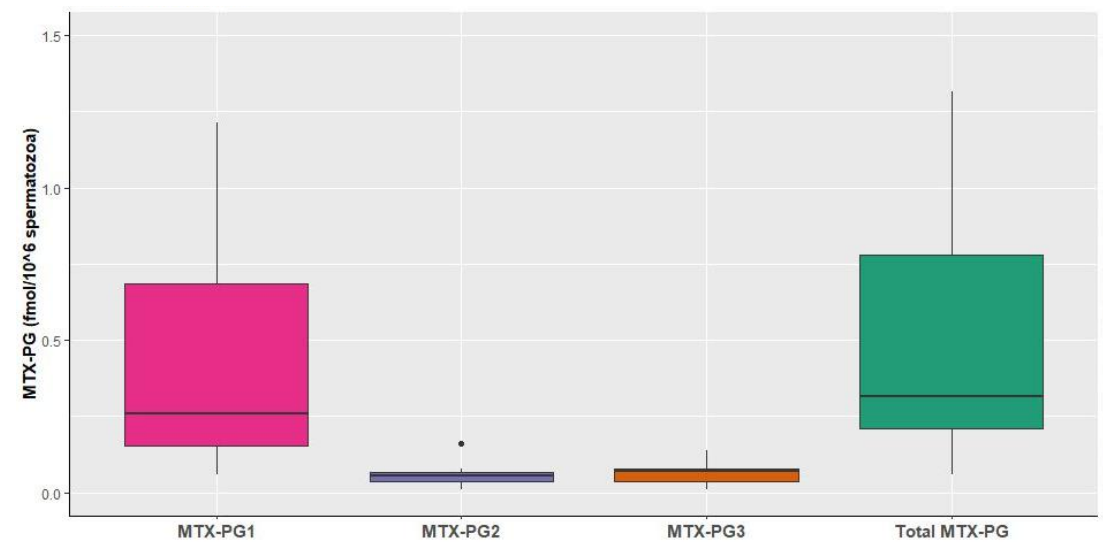
# MTX-polyglutamate (MTX-PG) 定量化

## 精液



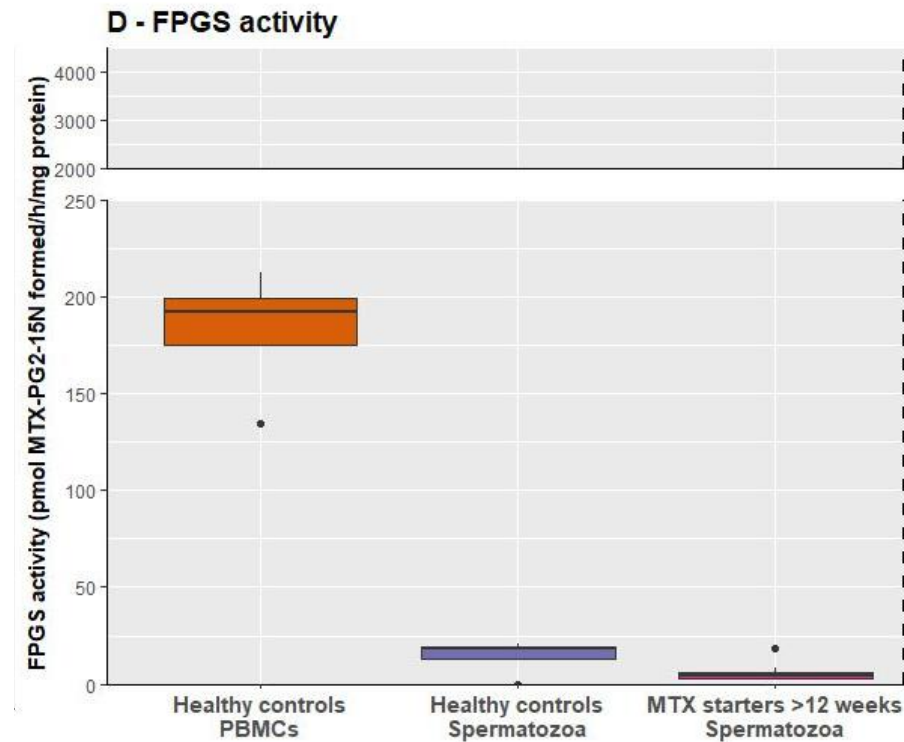
- 精液では、主にMTX-PG1が検出

## 精子



- 精子では、主にMTX-PG1が検出
- 精子中の総MTX-PG濃度は赤血球の約1/18だった

# PBMCと精子中の folypolyglutamate synthase (FPGS) 活性



- MTX開始群10名と健常対照群4名の、PBMCと精子での酵素活性を評価
- 両群とも精子と比較してPBMCでの活性が有意に高かった

# Discussion

- MTXは、精子の形態異常や生殖に関する内分泌障害、精子DNA障害の増加に関連しなかった。
- 精子内でのFPGS活性が極めて低い、すなわち精子内の細胞内MTX-PG濃度が極めて低いことを示した。
- MTX開始群のMTX開始前のsDFIは24.3%で、開始後のsDFIは13.5%と減少していた。これは疾患活動性が低下した影響かもしれない。
- この研究は催奇形性を評価したものではないが、MTX開始群の男性を父親として3つの妊娠が成立し、有害な妊娠転帰や先天奇形は見られなかった。

# Limitation

- 今回の結果は、MTX開始群に対してのものであり、必ずしも慢性MTX使用群には当てはまらない可能性がある。
- 理想的には精液サンプルは1回のvisitごと2つあった方がよいが、今回は精液サンプルは1つしか持っていなかった。したがって精子濃度の変動が結果に影響を与えている可能性はある。