

ミノサイクリンによる初期の血清陽性慢性関節リウマチの治療

擬似薬管理の臨床試験の4年間追跡調査

JAMES R. CYDELL, GAIL PAULSEN, CLAIRE E. HAIRE, KENT BLAKELY, WILLIAM PALMER, STEVEN WEES, P. JAMES ECKHOFF, LYNELL W. KLASSEN, MELVIN CHURCHILL, DEBORAH DOUD, ARTHUR WEAVER, and GERALD F. MOORE

目的: 慢性関節リウマチ(RA)はかなりの罹患率と死亡率をもたらしており、現在の治療は最適とは言えない。最近の研究では、初期の慢性関節リウマチの患者の治療にミノサイクリンは短期的な有効性が有る事が示されている。この研究は初期の慢性関節リウマチ患者を、通常の治療した場合と、ミノサイクリンで治療した場合の試験の4年間の追跡調査で比較する為に行なわれた。

方法: 46人の血清陽性(血液検査でリウマチ反応がある)で病歴が1年未満の慢性リウマチ患者を対照として登録した。この検査はミノサイクリン100mgを1日2回服用するグループと擬似薬を服用するグループから構成する二重盲目試験を行なう事が目的である。盲目試験(反応に応じて3ヶ月から6ヶ月)の期間後、全ての患者は伝統的な(普通の)治療を受けた。この報告書は無作為に選ばれて擬似薬を3ヶ月間与えられ、以後は通常の治療を受けた患者グループと無作為に選ばれ最初からミノサイクリンを与えられた患者グル

ープとを4年間の期間に渡って比較を行なっている。

結果: 追跡調査(平均して4年間)の対照として確保できた患者は最初からミノサイクリンを与えられた人は23人中20人、擬似薬を与えられた人は23人中18人であった。

試験は Dodson Fund(ネブラスカ大学財団)と Hannsen Foundation から支援を受けて行なわれた。

James R. O'Dell, MD, Gail Paulsen, RN, BSN, Claire E. Haire, RN, MSN, Lyne U. W. Klassen, MD, Gerald F. Moore, MD: University of Nebraska Medical Center, Omaha; Kent Blakely, MD: Platte Valley Medical Group, Kearney, Nebraska; William Palmer, MD, Steven Wees, MD, Deborah Doud, MD: Omaha, Nebraska; P. James Eckhoff, MD: Sioux Falls, South Dakota; Melvin Churchill, MD, Arthur Weaver, MD: Arthritis Center of Nebraska, Lincoln.

印刷された本稿の請求は以下にされた。James R. O'Dell, MD, Department of Internal Medicine, University of Nebraska Medical Center, 983025 Nebraska Medical Center, Omaha, NE 68198-3025.

印刷の為の原稿受付は、1999年1月20日、改訂版は1999年4月27日。

追跡調査終了時点で、慢性関節リウマチが抗リウマチ薬(DMARD)かステロイド治療なしに寛解に達したのは、最初からミノサイ

クリンを与えられたグループで8人、擬似薬を与えられたグループで1人であった。(P=0.02)抗リウマチ薬(DMARD)治療を必要とした患者は、ミノサイクリンのグループで10人であったのに対して、最初からの擬似薬グループでは16人であった。(P=0.02)

結論: 血清陽性のリウマチ患者では、病気の初期段階でミノサイクリンで治療を受けたグループを平均3ヶ月遅れて通常の治療を受けたグループと比べると、寛解はより高頻度で起こり、抗リウマチ薬(DMARD)による治療を必要とする度合いはより少なかった。

ミノサイクリンは初期のリウマチには効果的であると思われる、この働きメカニズムは更なる研究が必要であろう。

慢性関節リウマチ(RA)は成人の1%が被患する有り触れた病気であり、多くの場合深刻な影響を及ぼし、大半の患者にかなりの病的状態と多くの患者に早期の死亡率の原因となる。リウマチの通常治療では、非ステロイド消炎鎮痛薬(NSAID)の投与、それに引き続き、持続的で活動的な病気の患者には、疾患修飾抗リウマチ薬(DMARD)--メソトロキセート、ハイドロオキシクロロキニ、サラファサラジン、金剤--が投与される。リウマチの治療にテトラサイクリンを使う事は新しい事ではなく、はじめのうちはリウマチは感染因子によって引き起こされその後慢性化するという考えに主として基づき唱道された。最近まで、リウマチの治療にテトラサイクリンが有効である事を支持する証拠は大半は逸話的なものであった(1-4)。二つの無作

為化、推計学的管理の、二重盲目臨床試験を診断が十分に確定したリウマチ患者に対して行なわれた結果、テトラサイクリンから派生したミノサイクリンでの治療後、程度は控えめなものだが改善があった事が証明された為に、テトラサイクリンでリウマチを治療する事への興味が再び起こった(5,6)。テトラサイクリンの抗菌作用と言うよりも幾つかの抗関節炎作用が刺激的な新しい情報として暗示された。(復習のためには参考文献の7と8を参照)

現在ではリウマチ学者はリウマチの早期治療の重要性を強調しているし、幾つかの研究は、患者は早期に病気修飾治療(抗リウマチ薬による治療--訳者注)で治療した時に最も良く反応する事を示している(9)。初期の血清陽性リウマチ患者での無作為化、二重盲目、擬似薬管理の臨床試験で、我々はミノサイクリンで治療を受けた患者は6ヶ月時点でかなり良くなり、1年後優れた反応を示し続けた事を明らかにした(10)。この報告書では、4年の追跡試験の中間点以降に観察を広げ、ミノサイクリンで治療された患者を、従来の方法で治療を受けた患者と比較して、優れた(ある場合には劇的な)結果を報告したいと思う。

患者と試験方法

患者の選別: 元のプロトコールへの適格要件は(10)で詳しく報告されている: 手短かに言うと以下の通りである; 年齢は19歳から70歳、リウマチはアメリカリウマチ学会基準(11)、即ち高い血清リウマチ因子(RF)滴定量、6週間を超え1年以内の罹病期間、活動性の病態、少なくとも以

下の四つの内少なくとも三つの基準を満たす事：(28 mm/hour 以上の赤沈 (ESR)、朝のこわばりが 45 分以上、触ると痛い関節が 8 以上、腫れた関節が 3 以上)、ライム病の血清検査で陰性である事、高位の血清 IgM パルボウイルス抗体レベルがない事。以前に抗リウマチ薬 (DMARD) かステロイド療法を受けている患者と避妊をしていない妊娠適齢の女性は不適格とされた。

元の試験は二重盲目対照試験で、擬似薬と有効薬との比較を行なった。当報告書は追跡試験に参加出来た患者に基づいており、最初から無作為に選ばれたミノサイクリンのグループと、無作為に選ばれた擬似薬のグループとを比較している。擬似薬グループに無作為化された患者は、元の研究の擬似薬部門が終了して以後従来の治療を受けた。

実験計画：我々は元の 6 ヶ月間の二重盲目対照研究に 46 人の患者を参加させた。23 人の患者は無作為化されてミノサイクリン (100 mg を毎日 2 回) を与えられ、残りの 23 人は擬似薬を与えられた。登録の 3 ヶ月後患者を評価した。50% 改善の基準 (下部参照) を満たさないものは、研究の盲目の部分から外された。盲目の部分に残った患者は更に 3 ヶ月の治療の後、全員 50% 改善の評価を受けた。6 ヶ月の評価が終了してから、試験の盲目部分を終了させ、ミノサイクリンまたは擬似薬は停止された。盲目の部分の終了するとデータを記録し、医師は無作為化に付いて知らされ、どんな物であれ最も適当と思われる薬を自由に処方する事が出来ると知らされた。この処方には抗リウマチ薬 (DMARD) 単独、もしくは複数の DMARD、プレ

ドニゾロン、ミノサイクリンが含まれる。患者が盲目の期間にミノサイクリンを受けており良好な反応があった (15 人) が、公開の期間に病気によるフレアが起こった場合 (15 人全員) は殆どの場合ミノサイクリンが再開された。

評価基準：元の二重盲目試験の主要な終末点は患者が 6 ヶ月時点で 50% の改善を得る事で、それは以下の要件の内 3 つが満足される事に基づいている (パウラス [Paulus]：混成基準の修正版 [12])：朝のこわばりが 30 分以下か 50% 以上の改善、触ると痛い関節の 50% 改善、炎症関節が 50% の改善、血沈が女性で 20 mm/hour 男性で 20 mm/hour 以下。3 ヶ月目又は 6 ヶ月目でこの基準を満たさない患者には治療は不成功だと見なされた。追加の評価測定として、朝のこわばりの持続時間の推定値と修正版のリッチー関節指数 [Ritchie Articular Index] (13) を含めた。リッチー関節指数：38 個の関節を 0-3 段階で痛み (痛い関節の数) と腫れ (腫れた関節の数) で数える方法。患者の全身的な状態、総体的な痛みの尺度 (患者が数える)、医師による全身的な評価も記録された。

この試験の公開追跡調査段階に対しての、最終目標は次の通りとした：DMARD を使ったものと、使わなかったもの毎の、ACR の寛解基準 (14) を満たす患者数、及びステロイドまたは DMARD を必要とした患者数。これらの分析の目的の為に、ミノサイクリンは DMARD とは見なさない事にした。

併用療法：試験の公開期間中は、医師は如何なる治療も処方する事が出来た。--NSAID を変更する事、ミノサイクリン

ンを開始又は再開する事、DMARD とステロイドを共に又はどちらかを始める事を含めて。

統計的分析：上記の最終目標に適合した患者数の各グループ間での差はカイ2乗検定を用いて分析された。セルの期待される大きさが小さいと思われるので、表1のP値はフィッシャーの正確確率検定で計算した。

結果

元のプロトコールでは46人の患者を2つの治療グループの1つに(23人づつ)無作為に割り振った。登録時にはグループ間には目立った違いは無かった(10)。盲目の部分の試験結果は以前に印刷物として公開された(10)通り、試験の盲目の部分の終了時点で、50%の改善基準に適合したのは、ミノサイクリンで治療を受けたグループでは65%、擬似薬で治療を受けたグループで13%であった。(P=0.005)

毒性：盲目の部分の間、ミノサイクリンで治療を受けた患者で副作用の為に試験から外れた人は居なかった。擬似薬グループの患者一人が、胃腸の出血の為に試験から外れた。盲目の部分の後に、ミノサイクリンで治療を受けた患者の内3人が色素沈着過度の為にミノサイクリンを中止し、1人の患者は温和な色素沈着過度が報告されたが、治療を続ける事を選んだ。これは治療の1年、2.5年、及び3.5年時点で発生した。ミノサイクリンを停止した3人の患者では、色素沈着過度は時間の経過に従ってゆっくり少なくなった。プロトコールの継続が出来なくなる眩暈を訴えた患者は居なかった。

ミノサイクリンで長期の治療の

結果：最初からミノサイクリンで治療を受けた23人の患者の内20人は1年経過ごとに追跡調査を受けた。(中央値：4.25年、平均値：3.8年)擬似薬で治療を受けた患者23人の内18人も同様。これらの患者の現在の状態を表1に示す。リウマチがDMARD(ミノサイクリンはここではDMARDではないと見なされる)又はステロイドを服用すること無しに寛解になった患者の数の差はミノサイクリングループと擬似薬グループの間で顕著であった。(擬似薬グループでは18人中1人(6%)なのに対してミノサイクリングループでは20人中8人(40%); P=0.02)またDMARDを必要とした患者数の差でも同じ様であった。(擬似薬グループでは18人中16人(89%)のに対してミノサイクリングループでは20人中10人(50%); P=0.02)最初は擬似薬のグループに属していた3人の患者の内リウマチが追跡調査の段階で寛解状態になっていた1人は追跡調査の評価時点でミノサイクリンを与えられていた。重要な事には、最初からミノサイクリンで治療を受けた患者の50%(20の内10)はDMARDやステロイドを必要とする事は無かったし、40%(20の内8)はDMARDやステロイド無しに寛解の基準を満足したのである。

表1. 初期のリウマチ患者におけるミノサイクリン対擬似薬治療の長期試験の結果

	Original treatment group		P
	Minocycline	Placebo	
No. of patients available for followup	20	18	
Years of followup, mean (range)	3.8 (1.5-6.3)	4 (2.0-6.1)	
Remissions, no. (%) [*]	8 (40)	3 (17) [†]	0.16
Remissions without DMARDS, no. (%) [‡]	8 (40)	1 (6)	0.02
ACR 75% response, no. (%) [§]	13 (65)	4 (22) [¶]	0.01
DMARD therapy, no. (%)	10 (50)	16 (89)	0.02
Prednisone therapy, no. (%)	9 (45)	11 (65)	0.35
Current minocycline therapy, no. (%)	11 (55)	4 (24)	0.05

^{*} Remissions according to American College of Rheumatology (ACR) criteria, but measured at only a single time point.
[†] One of these 3 patients was treated with minocycline during the open phase.
[‡] Minocycline is not considered a disease-modifying antirheumatic drug (DMARD) in this analysis.
[§] All patients with >75% response, including those in remission.
[¶] Two of these 4 patients were treated with minocycline during the open phase.

ミノサイクリンに対する反応の時間経過：図1では縦軸に関節の数（疼痛があり腫れている関節数の和）、横軸にミノサイクリンに有意に反応した15人の患者のミノサイクリン治療の月数とり、プ

ロットした。顕著な反応は3ヶ月でも認められたが（その時点で合計関節数の平均値の31.1は13.5までに減少していた）、最大の反応は9ヶ月を超えてから起こった。

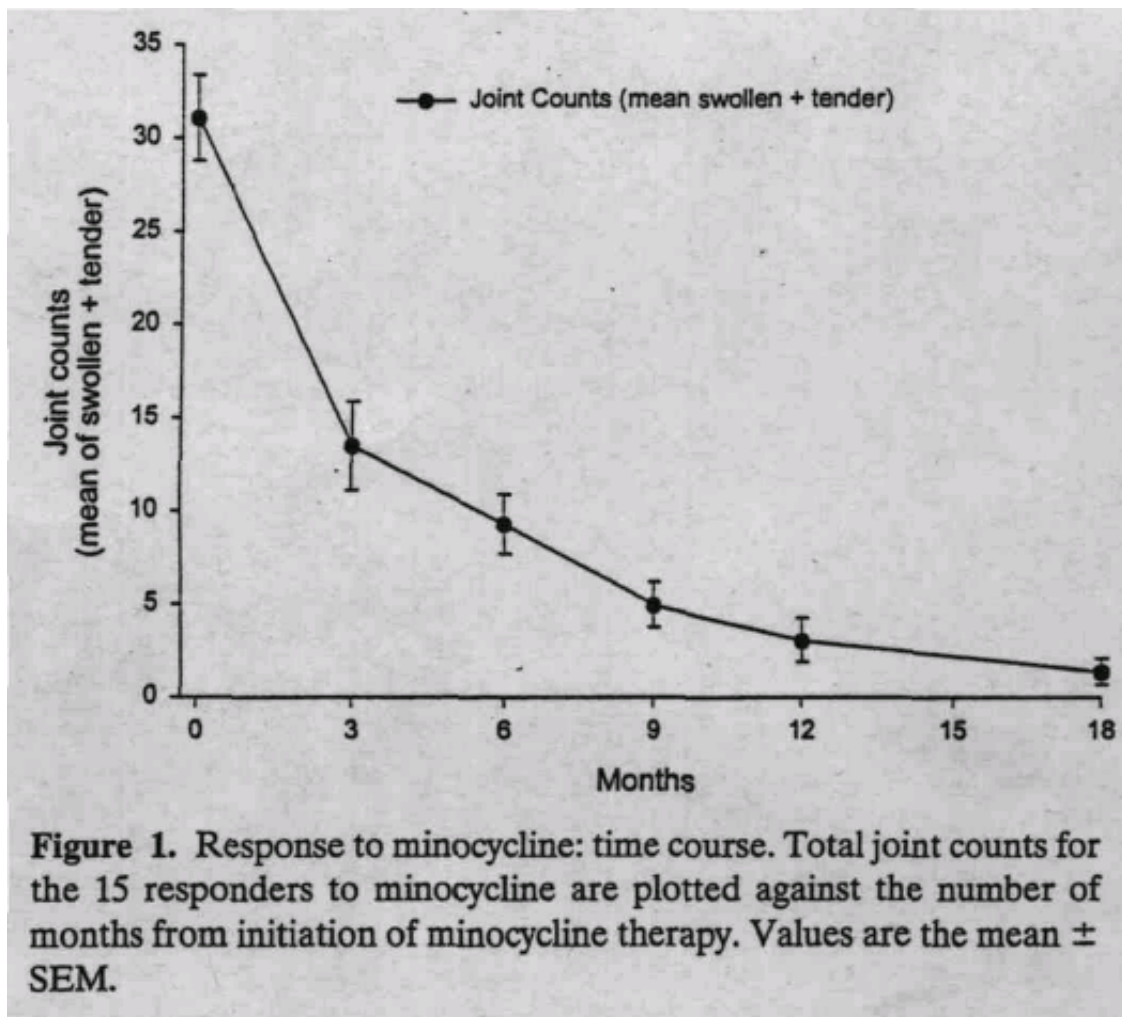


図1．縦軸：ミノサイクリンに対する反応、横軸：時間経過 ミノサイクリンに反応した15人の関節数の合計をミノサイクリン治療開始時からの月数に対して作図した。値は平均値 \pm SEM。

検討

現在使用できるDMARD治療では慢性関節リウマチの完全寛解は失望するほど稀である(15)。この認識が慢性関節リウマチの治療に対して代替医療への関心の殺到に火を注いできた。これにはDMARDの併用療法(16)とミノサイクリンの使用(16)が著しく増大した事が含まれる。我々の2重盲目プラセボ対照試験はミノサイクリンを、血清反応陽性の慢性関節リウマ

チ患者に発病の最初の1年以内に使った時に効果がある事を証明してきた(10)が、当報告書はこれらの患者が4年まで良い状態が継続している事を確認する。(追跡調査の平均)研究計画の幾つかの要点は強調するに値すると信じる：即ち我々は初期の患者だけを登録した。(これらの患者はこの療法に最も良く反応すると多くの研究で示されている)(9)、また我々はRF因子が陽性の患者だけを登録した(こうする事

で比較的同種の患者集団、と偶然に寛解になる割合が低い事が期待できて、かつ進行性でかつ活動性の病気を持つであろうと予測できる患者グループとで試験が出来る)。そして最後に、我々は通常使われる20%ではなく症状の50%改善を成功と定義する事に決めた。

我々の所見も、他の研究者のそれもミノサイクリンの最大の効果は1年以後でなければ出現しないと暗示している。従って元の試験の結果はいつそう注目される。活動性の慢性関節リュウマチ患者にプラセボによる治療を3ヶ月以上続ける事はしなくなかった。それ故に試験の二重盲目の部分は6ヶ月しか継続させなかったし、そうしなかったら何人かの患者は、最大の反応を得る機会を得る前にミノサイクリン治療から脱落したかも知れない。

我々のミノサイクリンで治療した患者の改善の大きさは、オランダでの試験(5)とM I R A (Minocycline in Rheumatoid Arthritis)試験(6)での統計的には重要であるが、控えめな効果と比べると劇的なものであったと言える。これらの表面的には異種に見える結果を調停するには、我々の研究は全く異なった患者の集団を使った事を認めなければならない。最も顕著な違いは罹病期間である。これは他の試験では平均して8.6年から13年であり、我々の試験では5ヶ月未満である。反応の大きさの観測された差異は初期の患者は殆どの療法に良く反応すると言う事実で説明できる。あるいはリュウマチの初期にミノサイクリンが劇的な効果を示す絶好の機会の窓が有るのかも知れない。その上に、オランダでの試験と比べて、特に眩

暈については副作用は少なかった。この理由は明らかではないが、患者の層が若いことが理由かもしれない。他のリュマチ治療と同じ様に、ミノサイクリンも無期限に有効であり続けなければならないのかもしれない；それ故にミノサイクリン治療の持続時間に伴い限局性の色素沈着過度が増すと思われる事が問題となる。最近我々は何人かの患者でドキシサイクリンに切り換えた。これは知られている働きにつき殆ど同じ様な物であるが、色素沈着過度については関連が少ないと思われる。

テトラサイクリン、特にミノサイクリンとドキシサイクリンは、コラゲナーゼとゼラチナーゼを含む、金属蛋白分解酵素の抑制薬(17)である。金属蛋白分解酵素は、ほぼ間違いなくリュマチの関節破壊に有効であり、動物モデルでの関節炎(リュマチと骨関節症共に)(18,19)の研究では、ミノサイクリンかドキシサイクリン治療が有効である事が示されている。金属蛋白分解酵素を抑制する能力を維持してはいるが抗菌性の能力は持っていないミノサイクリンを修正して作った誘導体は、これらのモデルの幾つかにおいては有効性を維持している。リュマチの患者では、ミノサイクリンかドキシサイクリン治療は滑液のコラゲナーゼ産生(20)、尿中の金属蛋白分解酵素のレベル(21)、唾液中のコラゲナーゼ活性(22)を減少せしめる効果を得られる事が示されている。当後半の公開標識試験では、リュマチの臨床像もまた顕著に改善した(22)。

慢性関節リュマチの治療にテトラサイクリンを使用する初期の唱導者達は、慢性関節リュマチは感染因子によって

引き起こされ継続すると信じ、対細菌効果(1,2)にその選択の基礎を置いていた。二つの現在良く使われる DMARD の金とスルファサラジンは始めは同じような理由で使われた。近年のライム病、エイズウイルス、C 型肝炎等の経験は、我々に如何に多くを病気の感染性誘因を免疫性かつリウマチ性症状の発現との関連で学ばねばならないかを鮮明に思い起こさせる。しかしながら、感染因子が慢性関節リウマチの病因論での役割を果たすであろう事が何時か示される事は確かだ。PCR により検査されたリウマチ患者の関節内の有機体の証拠に基づき最近のデータ(23,24)、びらん性疾患を持つ患者と持たない患者の腸内フローラの差異(25)、最も普通に使われる効果的な DMARD の一つであるサルファサラジンが腸内フローラを変化させる能力(26,27)はとても興味深い。

抗菌と抗金属分解酵素効果に加えて、テトラサイクリンは、抗炎症効果、免疫調整効果、血管新生を抑制する効果を持つ事が明らかにされている(7,8)。テトラサイクリンの免疫調整効果に関しては、にきび患者の明らかな薬物誘発性狼瘡をミノサイクリンで治療した最近の報告は興味深い(28)。最後に、慢性関節リウマチ治療における TNF- α に対抗する効果への最近の多大な熱狂があり、その利用を支持する幾つかの証拠がある。金属蛋白質分解酵素は TNF の処理に掛かり合いがあって、基質金属蛋白質分解酵素の抑制因子によって影響をうけるのかも知れない(29,30)。

我々の研究はミノサイクリンの作用機序のきわどく重要な問いに対しては向けなかった。テトラサイクリンを動物

モデルで使った場合に観察された効果に基づいて、我々は効能の一部分は基質金属蛋白質分解酵素の抑制に拠るものと仮定した。我々は金属蛋白質分解酵素の抑制は将来のリウマチ治療の為の併用療法の重要な部分になるだろうと信じている。抗菌性効果が重要であるかは不明であるが、この可能性を除外する事は明らかに不可能である。ミノサイクリンに有意に反応した患者の大部分がこの治療を停止した時にフレアを起こした事は興味深い。この反応が想起された機序が他方に対して有利な証拠なのかどうかは不明である。

我々はミノサイクリンは、血清反応陽性の慢性関節リウマチ患者に病気の最初の一年以内の使用が効果的な治療である事を確信した。治療の最適な持続時間や作用機序を定める為、またミノサイクリンを病気の初期段階で、単独で使うのと他の DMARD と併用する場合とを比較をする為に更なる研究が必要である。

謝辞

著者は以下の方に感謝したい。Renee Crosby さんには原稿の準備に忍耐強く当たってくれた事に、David Nicklin さんには原稿を専門家としての吟味をしてくれた事に、Muriel Block さんと Rayla Otto, PA さんにはデータの収集に、Michael Reece さんには試験治療の調剤で、故 Kash Patil 博士には統計での助力に。

参考文献

1. Sanchez I. As tetraciclinas no tratamento da artrite reumatoid e doencas reumaticas

- inflammatorias. [Tetracycline treatment in RA and other rheumatic diseases]. *Brasil Med* 1968;82:22-31.
2. Brown TM, Hochberg MC, Hicks JT, dark HW. Antibiotic therapy of RA: a retrospective cohort study of 98 patients with 451 patient-years of follow-up. *Int Congr Rheumatol* 1985;S8:5.
 3. Breedveld FC, Dijkmans BAC, Mattie H. Minocycline treatment for rheumatoid arthritis: an open dose finding study. *J Rheumatol* 1990;17:43-6.
 4. Langevitz P, Bank I, Zemer D, Book M, Pras M. Treatment of resistant rheumatoid arthritis with minocycline: an open study. *J Rheumatol* 1992; 19:1502-4.
 5. Kloppenburg M, Breedveld FC, Terwiel JP, Mallee C, Dijkmans BAC. Minocycline in active rheumatoid arthritis: a double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 1994;37:629-36.
 6. Tiley BC, Alarcon. GS, Heyse SP, Trentham DE, Neuner R, Kaplan DA, et al. Minocycline in rheumatoid arthritis: a 48-week, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 1995;122: 81-9.
 7. Alarcon GS. Tetracyclines in the treatment of rheumatoid arthritis: they work, but we do not know the reason(s). *J Clin Rheumatol* 1995;1:190-3.
 8. Greenwald RA. Tetracyclines may be therapeutically beneficial in rheumatoid arthritis, but not for the reasons that you might think. *J Clin Rheumatol* 1995;1:185-9.
 9. Van der Heide A, Jacobs JWG, Bijlisma JWJ, Heurkens AHM, van Booma-Frankfort C, van der Veen MJ, et al. The effectiveness of early treatment with "second-line" antirheumatic drugs: a randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 1996;124:699-707.
 10. CYDell JR, Haire CE, Palmer W, Drymalski W, Wees S, Blakely K, et al. Treatment of early rheumatoid arthritis with minocycline or placebo: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 1997;40:842-8.
 11. Amett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988;31:315-24.
 2. Paulus HE, Egger MJ, Ward JR, Williams HJ, and the Cooperative Systematic Studies of Rheumatic Diseases Group. Analysis of improvement in individual rheumatoid arthritis patients treated with disease-modifying antirheumatic drugs, based on the findings in patients treated with placebo. *Arthritis Rheum* 1990;33:477-84.
 13. Ritchie DM, Boyle JA, McInnes JM, Jasani MK, Dalakos TG, Grieverson P, et al. Clinical studies with an articular index for the assessment of joint tenderness in patients with rheumatoid arthritis. *QJM* 1968;37:393-406.
 14. Finals RS, Masi AT, Larsen RA, and the Subcommittee for Criteria of Remission in Rheumatoid Arthritis of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee. Preliminary criteria for clinical remission in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1981;24:1308-15.
 15. Alarcon GS, Blackburn WD Jr, Calvo A, Castaneda O. Evaluation of the American

- Rheumatism Association preliminary criteria for remission in rheumatoid arthritis: a prospective study. *J Rheumatol* 1987;14:93-6.
16. O'Dell JR. Combination DMARD therapy for rheumatoid arthritis: apparent universal acceptance [abstract]. *Arthritis Rheum* 1997;40 Suppi 9:S50.
17. Greenwald RA. Treatment of destructive arthritic disorders with MMP inhibitors: potential role of tetracyclines. *Ann N Y Acad Sci* 1994;732:181-98.
18. Greenwald RA, Moak SA, Ramamurthy NS, Golub LM. Tetracyclines suppress matrix metalloproteinase activity in adjuvant arthritis and in combination with flurbiprofen ameliorate bone damage. *J Rheumatol* 1992;19:927-38.
19. Yu LP Jr, Smith GN Jr, Brandt KD, Myers SL, O'Connor BL, Brandt DA. Reduction of the severity of canine osteoarthritis by prophylactic treatment with oral doxycycline. *Arthritis Rheum* 1992;35:1150-9.
20. Greenwald RA, Golub LM, Lavieties NS, Ramamurthy NS, Gruber B, Laskin RS, et al. Tetracyclines inhibit human synovial collagenase in vivo and in vitro. *J Rheumatol* 1987;14:28-32.
21. Greenwald RA, Moak SA, Golub LM. Low dose doxycycline inhibits pyridinolone excretion in selected patients with rheumatoid arthritis. *Ann N Y Acad Sci* 1994;732:419-21.
22. Nordstrom D, Lindy O, Lauhio A. Anti-collagenolytic mechanism of action of doxycycline treatment in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 1998;17:175-80.
23. Schumacher HR, Arayssi T, Branigan P, Gerard H, Kuppel J, Pando J, et al. Surveying for evidence of synovial chlamydia trachomatis by polymerase chain reaction: a study of 411 synovial biopsies and synovial fluids [abstract]. *Arthritis Rheum* 1997;40 Suppi 9:S270.
24. Van der Heiden IM, Wilbrink B, Schouls LM, Breedveld FC, Tak PP. Detection of mycobacterial species in joint samples from patients with arthritis by PCR [abstract]. *Arthritis Rheum* 1997;40 Suppi 9:S271.
25. Eerola E, Mottonen T, Hannonen P, Luukkainen R, Kantola I, Vuori K, et al. Intestinal flora in early rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol* 1994;33:1030-8.
26. Bradley SM, Neumann VC, Barr K, Troughton PR, Astbury C, Bird HA, et al. Sequential study of bacterial antibody levels and faecal flora in rheumatoid arthritis patients taking sulphasalazine. *Br J Rheumatol* 1993;32:683-8.
27. Neumann VC, Shinebaum R, Cooke EM, Wright V. Effects of sulphasalazine on faecal flora in patients with RA: a comparison with penicillamine. *Br J Rheumatol* 1987;26:334-7.
28. Knowles SR, Shapiro L, Shear NH. Serious adverse reactions induced by minocycline: report of 13 patients and review of the literature. *Arch Dermatol* 1996;132:934-9.
29. Gearing AJH, Beckett P, Christodoulou M, Churchill M, Clements J, Davidson AH, et al. Processing of tumour necrosis factor-a precursor by metalloproteinases. *Nature* 1994;370:555-7.
30. McGeehan GM, Becherer JD, Bast RC, Boyer CM, Champion B, Connolly KM, et al. Regulation of tumour necrosis factor-a processing by a metalloproteinase inhibitor. *Nature* 1994;370:558-61.