(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119343147 A
(43)申请公布日 2025.01.21

(21)申请号 202380045183.6

(22)申请日 2023.05.05

(30)优先权数据
63/338,601 2022.05.05 US
63/399,491 2022.08.19 US
63/399,498 2022.08.19 US
63/404,475 2022.09.07 US
63/414,897 2022.10.10 US
63/428,970 2022.11.30 US
63/431,920 2022.12.12 US
63/434,791 2022.12.22 US
63/447,222 2023.02.21 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.12.05

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2023/066657 2023.05.05

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/215865 EN 2023.11.09

(71)申请人 阿米库斯治疗学公司
地址 美国宾夕法尼亚州

(72)发明人 杰伊·巴斯 希拉·S·达斯 杰夫·卡斯特利

(74)专利代理机构 北京律诚同业知识产权代理有限公司 11006
专利代理师 徐金国 吴启超

(51)Int.Cl.
A61K 38/47(2006.01)
A61P 3/00(2006.01)
A61P 21/00(2006.01)

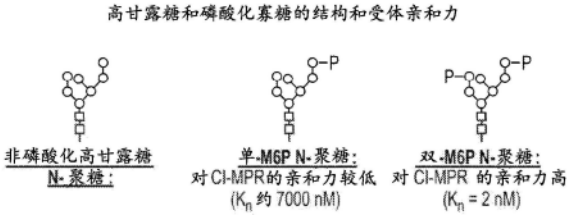
权利要求书3页 说明书150页
序列表（电子公布） 附图113页

(54)发明名称

用于治疗庞贝病的方法

(57)摘要

本文提供通过向受试者施用重组人酸性α-葡糖苷酶分子群或其药物组合物或配制品以及酶稳定剂来治疗庞贝病的方法。



CN 119343147 A

1.一种在患有庞贝病的受试者中相对于基线使肌肉力量、运动功能、肺功能或药效学量度中的一个或多个量度改善和/或稳定持续大于24个月的方法,所述方法包括与酶稳定剂同时或依次地向所述受试者施用重组人酸性α-葡糖苷酶(rhGAA)分子群,

其中每个rhGAA分子包含七个潜在N-糖基化位点,并且所述rhGAA分子在第一潜在N-糖基化位点处包含至少0.5mol双-甘露糖-6-磷酸(双-M6P)/mol rhGAA。

2.如权利要求1所述的方法,其中所述量度得到改善和/或稳定持续大于36个月。

3.如权利要求1或2所述的方法,其中所述量度得到改善和/或稳定持续至少48个月。

4.如权利要求1-3中任一项所述的方法,其中所述第一潜在糖基化位点处的双-M6P数量由LC MS/MS确定。

5.如权利要求1-4中任一项所述的方法,其中所述量度相对于基线改善持续第一时间段,并稳定持续第二时间段。

6.如权利要求1-5中任一项所述的方法,其中所述受试者是经历过酶替代疗法(ERT)的受试者。

7.如权利要求1-5中任一项所述的方法,其中所述受试者是酶替代疗法(ERT)初治受试者。

8.如权利要求1-7中任一项所述的方法,其中通过徒手肌力测试(MMT)测量肌肉力量。

9.如权利要求1-8中任一项所述的方法,其中在大于24个月的治疗后,肌肉力量得分相对于基线改善至少1.5、2.0或2.5。

10.如权利要求1-9中任一项所述的方法,其中通过6分钟步行测试测量运动功能。

11.如权利要求1-10中任一项所述的方法,其中所述受试者经历过ERT,并且在大于24个月的治疗后,运动功能相对于基线改善至少15、20或25米。

12.如权利要求1-11中任一项所述的方法,其中所述受试者是ERT初治,并且在大于24个月的治疗后,运动功能相对于基线改善至少30、40或50米。

13.如权利要求1-12中任一项所述的方法,其中通过坐姿用力肺活量(FVC)测试测量肺功能。

14.如权利要求1-13中任一项所述的方法,其中在大于24个月的治疗后,所述受试者的预测FVC百分比与基线相比稳定。

15.如权利要求1-14中任一项所述的方法,其中所述经历过ERT的受试者先前已用阿葡糖苷酶α治疗。

16.如权利要求1-15中任一项所述的方法,其中所述经历过ERT的受试者先前已用阿葡糖苷酶α治疗约2年至约6年。

17.如权利要求1-15中任一项所述的方法,其中所述经历过ERT的受试者先前已用阿葡糖苷酶α治疗至少约7年。

18.如权利要求1-17中任一项所述的方法,其中所述受试者不能行走。

19.如权利要求1-17中任一项所述的方法,其中所述受试者能行走。

20.如权利要求1-19中任一项所述的方法,其中所述药效学量度是肌酸激酶(CK)或尿己糖四糖(Hex4)。

21.如权利要求1-20中任一项所述的方法,其中所述rhGAA分子群以5mg/kg至40mg/kg的剂量施用。

22.如权利要求1-21中任一项所述的方法,其中所述rhGAA分子群以20mg/kg的剂量施用。

23.如权利要求1-22中任一项所述的方法,其中所述rhGAA分子群每两周施用一次。

24.如权利要求1-23中任一项所述的方法,其中所述rhGAA分子群静脉内施用。

25.如权利要求1-24中任一项所述的方法,其中所述酶稳定剂是麦格司他或其药学上可接受的盐。

26.如权利要求25所述的方法,其中所述麦格司他或其药学上可接受的盐口服施用。

27.如权利要求25或26所述的方法,其中所述麦格司他或其药学上可接受的盐以195mg或260mg的剂量施用。

28.如权利要求25-27中任一项所述的方法,其中所述麦格司他或其药学上可接受的盐在施用所述rhGAA分子群之前施用。

29.如权利要求25-28中任一项所述的方法,其中所述麦格司他或其药学上可接受的盐在施用所述rhGAA分子群之前一小时施用。

30.如权利要求25-29中任一项所述的方法,其中所述受试者在施用麦格司他或其药学上可接受的盐之前禁食至少两小时并且在施用麦格司他或其药学上可接受的盐之后禁食至少两小时。

31.如权利要求1-30中任一项所述的方法,其中所述rhGAA分子包含与SEQ ID NO:4至少90%相同的氨基酸序列。

32.如权利要求1-31中任一项所述的方法,其中所述rhGAA分子包含与SEQ ID NO:6至少98%相同的氨基酸序列。

33.如权利要求1-32中任一项所述的方法,其中所述rhGAA分子包含SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:6的氨基酸序列。

34.如权利要求1-33中任一项所述的方法,其中所述rhGAA分子上40%-60%的N-聚糖是复合型N-聚糖。

35.如权利要求1-34中任一项所述的方法,其中至少30%的所述rhGAA分子包含一个或多个带有一个甘露糖-6-磷酸残基(单-M6P)或双-M6P的N-聚糖单元。

36.如权利要求1-35中任一项所述的方法,其中所述rhGAA分子包含平均0.5mol至7.0mol单-M6P或双-M6P/mol rhGAA。

37.如权利要求1-36中任一项所述的方法,其中所述rhGAA分子包含平均2.0至8.0mol唾液酸/mol rhGAA。

38.如权利要求1-37中任一项所述的方法,其中所述rhGAA分子包含平均至少2.5mol M6P/mol rhGAA和至少4mol唾液酸/mol rhGAA。

39.如权利要求1-38中任一项所述的方法,其中,每mol rhGAA,所述rhGAA分子包含:

(a)在第二潜在N-糖基化位点处的平均0.4至0.6mol单-M6P;

(b)在第四潜在N-糖基化位点处的平均0.4至0.6mol双-M6P;或

(c)在第四潜在N-糖基化位点处的平均0.3至0.4mol单-M6P。

40.如权利要求39所述的方法,其中,每mol rhGAA,所述rhGAA分子进一步包含4mol至7.3mol唾液酸,

其中,每mol rhGAA,所述rhGAA分子包含:

(a)在第三潜在N-糖基化位点处的平均0.9至1.2mol唾液酸;

(b)在第五潜在N-糖基化位点处的平均0.8至0.9mol唾液酸;或

(c)在第六潜在N-糖基化位点处的平均1.5至4.2mol唾液酸。

41.如权利要求1-40中任一项所述的方法,其中所述rhGAA分子群被配制在进一步包含至少一种药学上可接受的缓冲液、赋形剂或载剂的药物组合物中。

42.如权利要求41所述的方法,其中所述药物组合物进一步包含至少一种选自由柠檬酸盐、磷酸盐及其组合组成的组的缓冲液,以及至少一种选自由甘露醇、聚山梨酯80及其组合组成的组的赋形剂;其中所述药物组合物具有5.0至7.0的pH。

43.如权利要求41或42所述的方法,其中所述药物组合物具有5.0至6.0的pH。

44.如权利要求41-43中任一项所述的方法,其中所述药物组合物进一步包含水、酸化剂、碱化剂或其组合。

45.如权利要求41-44中任一项所述的方法,其中,在所述药物组合物中,所述rhGAA分子群以5-50mg/mL的浓度存在,所述至少一种缓冲液是以10-100mM的浓度存在的柠檬酸钠缓冲液,所述至少一种赋形剂是以10-50mg/mL的浓度存在的甘露醇和以0.1-1mg/mL的浓度存在的聚山梨酯80,并且所述药物组合物进一步包含水以及任选地包含酸化剂和/或碱化剂;其中所述药物组合物具有6.0的pH。

46.如权利要求41-45中任一项所述的方法,其中,在所述药物组合物中,所述rhGAA分子群以15mg/mL的浓度存在,所述柠檬酸钠缓冲液以25mM的浓度存在,所述甘露醇以20mg/mL的浓度存在,并且所述聚山梨酯80以0.5mg/mL的浓度存在。

47.如权利要求1-46中任一项所述的方法,其中所述rhGAA由中国仓鼠卵巢(CHO)细胞产生。

48.如权利要求1-47中任一项所述的方法,其中所述rhGAA分子上总N-聚糖单元的至少6%是带有单-M6P残基的聚糖。

49.如权利要求1-48中任一项所述的方法,其中所述rhGAA分子上总N-聚糖单元的至少3%是带有双-M6P残基的聚糖。

50.如权利要求1-49中任一项所述的方法,其中所述rhGAA分子上总N-聚糖的高达55%是唾液酸化的复合聚糖。

用于治疗庞贝病的方法

技术领域

[0001] 本披露涉及通过施用重组人α-葡糖苷酶来治疗庞贝病的方法。

背景技术

[0002] 庞贝病(也称为糖原贮积症II型(GSD-II)或酸性麦芽糖酶缺乏症)是一种遗传性溶酶体贮积病,由酸性α-葡糖苷酶(GAA)活性缺乏引起。患有庞贝病的人缺少或具有降低水平的酸性α-葡糖苷酶(GAA),GAA是一种将糖原分解为葡萄糖的酶,葡萄糖是肌肉的主要能量来源。这种酶缺乏导致溶酶体中过量的糖原累积,这些溶酶体是包含通常分解糖原和其他细胞碎片或废物的酶的细胞内细胞器。患有庞贝病的受试者的某些组织(尤其是肌肉)中的糖原累积损害了细胞正常运行的能力。在庞贝病中,在溶酶体中,特别是在骨骼肌细胞中,糖原没有适当地代谢并逐渐累积,并且在该疾病的婴儿发病形式中,在心肌细胞中,糖原没有适当地代谢并逐渐累积。糖原的累积损害肌细胞和神经细胞以及其他受影响的组织中的那些肌细胞和神经细胞。

[0003] 目前对庞贝病的非姑息治疗包括使用以商标LUMIZYME®和MYOZYME®出售的重组阿葡糖苷酶α产品和以商标NEXVIAZYME®出售的艾夫糖苷酶(avalglucosidase)α产品的酶替代疗法(ERT)。这种常规的酶替代疗法寻求通过施用rhGAA替换溶酶体中缺失的GAA,从而恢复细胞分解溶酶体糖原的能力来治疗庞贝病。LUMIZYME®/MYOZYME®和NEXVIAZYME®是由赛诺菲健赞公司(Sanofi Genzyme)作为生物制剂生产或销售的且由美国食品和药物管理局批准并且通过参考医生案头参考(Physician's Desk Reference)(2014)(其通过引用特此并入)描述的常规形式的rhGAA。

[0004] 然而,目前上市的ERT最多只能在有限的时间内对肌肉功能、力量和呼吸功能的量度提供有限的改善,随后这些参数会缓慢衰退(Toscano和Schoser,(2013)J Neurol[神经病学杂志]260,951-959;Wyatt等人,(2012)Health Technol Assess[健康技术评估]16(39))。需要提供长期改善的庞贝病治疗。

发明内容

[0005] 本文提供了一种用于使患有庞贝病的受试者的运动功能和/或肺功能改善和/或稳定持续至少24个月、至少36个月或至少48个月的方法,该方法包括向该受试者与酶稳定剂同时或依次地施用重组人酸性α-葡糖苷酶(rhGAA)分子群;其中每个rhGAA分子包含七个潜在N-糖基化位点;其中rhGAA分子上40%-60%的N-聚糖为复合型N-聚糖;其中如使用液相色谱串联质谱(LC-MS/MS)所测定,rhGAA分子在第一潜在N-糖基化位点处包含至少0.5mol双-甘露糖-6-磷酸(双-M6P)/mol rhGAA;并且其中,与基线相比,该方法改善和/或稳定了受试者的运动功能、肌肉力量和/或肺功能。

[0006] 在一些实施例中,受试者是经历过酶替代疗法(ERT)的受试者。

[0007] 在用于治疗经历过ERT的受试者的方法的一些实施例中,运动功能通过6分钟步行

测试来测量;以及在开始治疗后12或24个月,6分钟步行距离(6MWD)相对于基线的改善为至少5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34或35米。

[0008] 在用于治疗经历过ERT的受试者的方法的一些实施例中,运动功能通过6分钟步行测试来测量;以及在开始治疗后36个月,6分钟步行距离(6MWD)相对于基线的改善为至少5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、41、42、43、44、45、46或47米。

[0009] 在用于治疗经历过ERT的受试者的方法的一些实施例中,受试者具有以下的基线6MWD:(a)至少300米;或(b)少于300米。

[0010] 在用于治疗经历过ERT的受试者的方法的一些实施例中,肌肉力量通过徒手肌力测试(MMT)测量;以及在开始治疗后12、24、36、48个月,MMT下肢得分相对于基线的改善为至少1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5分。

[0011] 在用于治疗经历过ERT的受试者的方法的一些实施例中,受试者具有以下的基线MMT下肢得分:(a)至少25;或(b)少于25。

[0012] 在用于治疗经历过ERT的受试者的方法的一些实施例中,肺功能通过坐姿用力肺活量(FVC)测试测量,并且在开始治疗后24个月或36个月,受试者的预测FVC百分比与基线相比是稳定的。

[0013] 在用于治疗经历过ERT的受试者的方法的一些实施例中,受试者具有以下的基线预测FVC百分比:(a)至少50%;或(b)少于50%。

[0014] 在一些实施例中,经历过ERT的受试者先前已用阿葡糖苷酶α治疗。在一些实施例中,经历过ERT的受试者先前已用阿葡糖苷酶α治疗约2年至约6年。在一些实施例中,经历过ERT的受试者先前已用阿葡糖苷酶α治疗至少约7年。在一些实施例中,经历过ERT的受试者是不能行走的。在一些实施例中,经历过ERT的受试者是能行走的。

[0015] 在一些实施例中,受试者是ERT初治受试者。

[0016] 在用于治疗ERT初治受试者的方法的一些实施例中,运动功能通过6分钟步行测试来测量;以及在开始治疗后12、24、36或48个月,6分钟步行距离(6MWD)相对于基线的改善为至少40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59或60米。

[0017] 在用于治疗ERT初治受试者的方法的一些实施例中,运动功能通过6分钟步行测试来测量;以及在开始治疗后36个月,6分钟步行距离(6MWD)相对于基线的改善为至少34、35、40、41、42、43、44或45米。

[0018] 在用于治疗ERT初治受试者的方法的一些实施例中,受试者具有以下的基线6MWD:(a)至少300米;或(b)少于300米。

[0019] 在用于治疗ERT初治受试者的方法的一些实施例中,肌肉力量通过徒手肌力测试(MMT)测量;以及在开始治疗后12、24、36、或48个月,MMT下肢得分相对于基线的改善为至少1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5分。

[0020] 在用于治疗ERT初治受试者的方法的一些实施例中,受试者具有以下的基线MMT下肢得分:(a)至少25;或(b)少于25。

[0021] 在用于治疗ERT初治受试者的方法的一些实施例中,肺功能通过坐姿用力肺活量

(FVC)测试来测量;以及在开始治疗后12、24、36或48个月,受试者的预测FVC百分比相对于基线的改善为至少2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5.0、5.5、6.0、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、7.0、7.5、8.0%。

[0022] 在用于治疗ERT初治受试者的方法的一些实施例中,肺功能通过坐姿用力肺活量(FVC)测试来测量;以及在开始治疗后36个月,受试者的预测FVC百分比相对于基线的改善为至少5.7%、5.8%、5.9%、6.0%、6.1%或6.2%。

[0023] 在用于治疗ERT初治受试者的方法的一些实施例中,受试者具有以下的基线预测FVC百分比:a)至少50%;或(b)少于50%。

[0024] 在本文披露的任何方法的一些实施例中,与基线相比,该方法进一步降低受试者中至少一种肌肉损伤标志物和/或至少一种糖原累积标志物的水平。在一些实施例中,至少一种肌肉损伤标志物是肌酸激酶(CK),和/或至少一种糖原累积标志物是尿己糖四糖(Hex4)。

[0025] 在一些实施例中,rhGAA分子群以5mg/kg至20mg/kg、任选地20mg/kg的剂量施用。

[0026] 在一些实施例中,rhGAA分子群每两周施用一次。在一些实施例中,rhGAA分子群静脉内施用。

[0027] 在一些实施例中,酶稳定剂是麦格司他或其药学上可接受的盐,其中进一步任选地口服施用麦格司他或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,麦格司他或其药学上可接受的盐以195mg或260mg的剂量施用。

[0028] 在一些实施例中,麦格司他或其药学上可接受的盐在施用rhGAA分子群之前施用,任选地在施用rhGAA分子群之前一小时施用。在一些实施例中,受试者在施用麦格司他或其药学上可接受的盐之前禁食至少两小时并且在施用麦格司他或其药学上可接受的盐之后禁食至少两小时。

[0029] 在一些实施例中,rhGAA分子包含与SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:6至少95%相同的氨基酸序列。

[0030] 在一些实施例中,rhGAA分子包含SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:6的氨基酸序列。

[0031] 在一些实施例中,至少30%的rhGAA分子包含一个或多个带有一个甘露糖-6-磷酸残基(单-M6P)或双-M6P的N-聚糖单元,如使用LC-MS/MS测定的。

[0032] 在一些实施例中,rhGAA分子包含平均0.5mol至7.0mol单-M6P或双-M6P/mol rhGAA,如使用LC-MS/MS测定的。

[0033] 在一些实施例中,rhGAA分子包含平均2.0至8.0mol唾液酸/mol rhGAA,如使用LC-MS/MS测定的。

[0034] 在一些实施例中,如使用LC-MS/MS测定的,rhGAA分子包含平均至少2.5mol M6P/mol rhGAA和至少4mol唾液酸/mol rhGAA。

[0035] 在一些实施例中,每mol rhGAA,rhGAA分子包含:(a)在第二潜在N-糖基化位点处的平均0.4至0.6mol单-M6P;(b)在第四潜在N-糖基化位点处的平均0.4至0.6mol双-M6P;或(c)在第四潜在N-糖基化位点处的平均0.3至0.4mol单-M6P;其中(a)-(c)是使用LC-MS/MS测定的。

[0036] 在一些实施例中,每mol rhGAA,rhGAA分子进一步包含4mol至7.3mol唾液酸;并且,每mol rhGAA,rhGAA分子包含:(a)在第三潜在N-糖基化位点处的平均0.9至1.2mol唾液

酸;(b)在第五潜在N-糖基化位点处的平均0.8至0.9mol唾液酸;或(c)在第六潜在N-糖基化位点处的平均1.5至4.2mol唾液酸;其中(a)-(c)是使用LC-MS/MS测定的。

[0037] 在一些实施例中,rhGAA分子群被配制在进一步包含至少一种药学上可接受的缓冲液、赋形剂或载剂的药物组合物中。

[0038] 在一些实施例中,药物组合物进一步包含至少一种选自由柠檬酸盐、磷酸盐及其组合组成的组的缓冲液,以及至少一种选自由甘露醇、聚山梨酯80及其组合组成的组的赋形剂;其中药物组合物具有5.0至7.0的pH。

[0039] 在一些实施例中,药物组合物具有5.0至6.0的pH。

[0040] 在一些实施例中,药物组合物进一步包含水、酸化剂、碱化剂或其组合。

[0041] 在一些实施例中,在药物组合物中,rhGAA分子群以5-50mg/mL的浓度存在,至少一种缓冲液是以10-100mM的浓度存在的柠檬酸钠缓冲液,至少一种赋形剂是以10-50mg/mL的浓度存在的甘露醇和以0.1-1mg/mL的浓度存在的聚山梨酯80,并且药物组合物进一步包含水以及任选地包含酸化剂和/或碱化剂;其中药物组合物具有6.0的pH。

[0042] 在一些实施例中,在药物组合物中,rhGAA分子群以15mg/mL的浓度存在,柠檬酸钠缓冲液以25mM的浓度存在,甘露醇以20mg/mL的浓度存在,聚山梨酯80以0.5mg/mL的浓度存在。

[0043] 在一些实施例中,rhGAA由中国仓鼠卵巢细胞产生。

附图说明

[0044] 图1A显示了非磷酸化高甘露糖N-聚糖、单-M6P N-聚糖、和双-M6P N-聚糖。图1B显示了M6P基团的化学结构。每个方块代表N-乙酰葡糖胺(GlcNAc),每个圆圈代表甘露糖,每个P代表磷酸盐。

[0045] 图2A描述了rhGAA经由带有M6P的N-聚糖对靶组织(例如,患有庞贝病的受试者的肌肉组织)的生产性靶向。图2B描述了对非靶组织(例如,肝和脾)或通过非M6P N-聚糖与非靶组织的结合的非生产性药物清除。

[0046] 图3是用于制造、捕获、和纯化重组溶酶体蛋白的示例性方法的示意图。

[0047] 图4显示了用于用编码rhGAA的DNA转化CHO细胞的DNA构建体。

[0048] 图5是示出在阴离子交换(AEX)柱上被捕获(实施例2)和不被捕获(实施例1)的ATB200 rhGAA的CIMPR亲和色谱的结果的图。

[0049] 图6A-图6H显示了使用两种不同的LC-MS/MS分析技术对ATB200rhGAA进行位点特异性N-糖基化分析的结果。图6A显示了ATB200的七个潜在N-糖基化位点的位点占据率。图6B显示了ATB200的第一潜在N-糖基化位点的N-糖基化谱的两个分析。图6C显示了ATB200的第二潜在N-糖基化位点的N-糖基化谱的两个分析。图6D显示了ATB200的第三潜在N-糖基化位点的N-糖基化谱的两个分析。图6E显示了ATB200的第四潜在N-糖基化位点的N-糖基化谱的两个分析。图6F显示了ATB200的第五潜在N-糖基化位点的N-糖基化谱的两个分析。图6G显示了ATB200的第六潜在N-糖基化位点的N-糖基化谱的两个分析。图6H总结了第一、第二、第三、第四、第五和第六潜在N-糖基化位点的单磷酸化和双磷酸化种类的相对百分比。

[0050] 图7是显示LUMIZYME®(较细的线,向左侧洗脱)和ATB200(较粗的线,向右侧洗脱)的Polywax洗脱谱的图。

[0051] 图8是显示相比鉴定为BP-rhGAA、ATB200-1、和ATB200-2的ATB200rhGAA的三种不同的制剂，LUMIZYME®的N-聚糖结构的概述的表。

[0052] 图9A和图9B是分别显示LUMIZYME®和MYOZYME®的CIMPR亲和色谱结果的图。

[0053] 图10是比较ATB200 rhGAA的CIMPR结合亲和力(左轨迹线)与LUMIZYME®的CIMPR结合亲和力(右轨迹线)的图。

[0054] 图11A是在不同GAA浓度下，比较在正常成纤维细胞内的ATB200rhGAA活性(左轨迹线)与LUMIZYME® rhGAA活性(右轨迹线)的图。图11B是在不同GAA浓度下，比较来自患有庞贝病的受试者的成纤维细胞中的ATB200rhGAA活性(左轨迹线)与LUMIZYME® rhGAA活性(右轨迹线)的表。图11C是比较来自正常受试者和患有庞贝病的受试者的成纤维细胞的$K_{摄取}$的表。

[0055] 图12描绘了ATB200在酸性或中性pH缓冲液中的稳定性，该稳定性在使用SYPRO Orange的热稳定性测定中评估，因为当蛋白质变性时染料的荧光增加。

[0056] 图13显示用媒剂、阿葡糖苷酶α或ATB200/麦格司他处理的WT小鼠或Gaa KO小鼠的组织糖原含量，使用淀粉葡糖苷酶消化测定。条形代表7只小鼠/组的平均值±SEM。*在单因素方差分析下使用Dunnett方法进行多重比较，与阿葡糖苷酶α相比，$p<0.05$。

[0057] 图14描绘了用媒剂、阿葡糖苷酶α或ATB200/麦格司他处理的Gaa KO小鼠或WT小鼠的肌纤维中的LAMP1阳性囊泡。图像取自股外侧肌并且代表7只小鼠/组。放大倍数＝200x(插图中为1,000x)。

[0058] 图15A显示了用媒剂、阿葡糖苷酶α或ATB200/麦格司他处理的Gaa KO小鼠或WT小鼠的肌纤维中的LC3阳性聚集体。图像取自股外侧肌并且代表7只小鼠/组。放大倍数＝400x。图15B显示了LC3 II蛋白的蛋白质印迹分析。每条泳道总共加载了30mg蛋白质。

[0059] 图16显示了用媒剂、阿葡糖苷酶α或ATB200/麦格司他处理的Gaa KO小鼠或WT小鼠的肌纤维中的戴斯富林蛋白(Dysferlin)表达。图像取自股外侧肌并且代表7只小鼠/组。放大倍数＝200x。

[0060] 图17描绘了LAMP1(绿色)(参见例如“B”)和LC3(红色)(参见例如“A”)在单纤维中的共免疫荧光染色，这些单纤维分离自用媒剂、阿葡糖苷酶α或ATB200处理的Gaa KO小鼠的白色腓肠肌。“C”描绘了自噬碎片的清除和没有扩大的溶酶体。每只动物至少检查了30个纤维。

[0061] 图18描绘了与单独的ATB200相比，麦格司他分别在17μM和170μM使ATB200稳定。

[0062] 图19A-图19H显示了ATB200 rhGAA的位点特异性N-糖基化分析的结果，包括第七潜在N-糖基化位点处的N-糖基化谱，使用蛋白酶消化的ATB200的LC-MS/MS分析。图19A-图19H提供了以不同规模生产的十批ATB200的平均数据。

[0063] 图19A显示了ATB200的七个潜在N-糖基化位点的平均位点占据率。N-糖基化位点根据SEQ ID NO:1提供。CV＝变异系数。

[0064] 图19B-图19H显示了ATB200所有七个潜在N-糖基化位点的位点特异性N-糖基化分析，位点编号根据SEQ ID NO:5提供。条形代表被鉴定为分析的十个批次ATB200的特定N-聚糖组的N-聚糖种类的最大和最小百分比。图19B显示了ATB200的第一潜在N-糖基化位点的N-糖基化谱。图19C显示了ATB200的第二潜在N-糖基化位点的N-糖基化谱。图19D显示了

ATB200的第三潜在N-糖基化位点的N-糖基化谱。图19E显示了ATB200的第四潜在N-糖基化位点的N-糖基化谱。图19F显示了ATB200的第五潜在N-糖基化位点的N-糖基化谱。图19G显示了ATB200的第六潜在N-糖基化位点的N-糖基化谱。图19H显示了ATB200的第七潜在N-糖基化位点的N-糖基化谱。

[0065] 图20A-图20B进一步表征和总结了如也在图19A-19H所示的ATB200的N-糖基化谱。图20A显示了ATB200的2-邻氨基苯甲酸(2-AA)聚糖映射作图和LC/MS-MS分析并且总结了ATB200中鉴定的N-聚糖种类占总荧光的百分比。来自2-AA聚糖映射作图和LC-MS/MS分析的数据也在表6中描述。图20B总结了ATB200的所有七个潜在N-糖基化位点的平均位点占据率和平均N-聚糖谱,包括总磷酸化、单磷酸化、双磷酸化和唾液酸化。ND＝未检测到。

[0066] 图21显示了ATB200-03研究设计示意图。

[0067] 图22显示了参与ATB200-03研究的122名受试者的基线6分钟步行距离(6MWD)和坐姿用力肺活量(FVC)特征。AT-GAA组:接受ATB200/麦格司他治疗的受试者;阿葡糖苷酶α组:接受阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗的受试者。

[0068] 图23A描绘了6MWD和FVC数据,其显示了总群体(n＝122)的基线、第52周时相对于基线的变化(“CFBL”)、差异和P值。AT-GAA组:接受ATB200/麦格司他治疗的受试者;阿葡糖苷酶α组:接受阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗的受试者。

[0069] 图23B描绘了6MWD和FVC数据,显示了总群体(n＝122)随时间相对于基线的变化。西帕葡糖苷酶(Cipaglucosidase)α/麦格司他组:接受ATB200/麦格司他治疗的受试者;阿葡糖苷酶α/安慰剂:接受阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗的受试者。

[0070] 图24描绘了6MWD和FVC数据,其显示了经历过ERT的群体(n＝95)的基线、第52周的CFBL、差异和P值。AT-GAA组:接受ATB200/麦格司他治疗的受试者;阿葡糖苷酶α组:接受阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗的受试者。

[0071] 图25描绘了经历过ERT的群体(n＝95)在第12周、第26周、第38周和第52周时相对于基线的6MWD和FVC变化。

[0072] 图26A描绘了6MWD和FVC数据,其显示了ERT初治群体(n＝27)的基线、第52周的CFBL、差异和P值。AT-GAA组:接受ATB200/麦格司他治疗的受试者;阿葡糖苷酶α组:接受阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗的受试者。

[0073] 图26B描绘了6MWD和FVC数据,显示了ERT初治群体(n＝27)随时间相对于基线的变化。西帕葡糖苷酶(Cipaglucosidase)α/麦格司他组:接受ATB200/麦格司他治疗的受试者;阿葡糖苷酶α/安慰剂:接受阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗的受试者。

[0074] 图27描绘了总群体和经历过ERT的群体的关键次要终点和生物标志物的基线特征。AT-GAA组:接受ATB200/麦格司他治疗的受试者;阿葡糖苷酶α组:接受阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗的受试者。

[0075] 图28描绘了总群体(左)和经历过ERT的群体(右)在第12周、第26周、第38周和第52周时相对于基线的较低徒手肌力测试(MMT)变化。

[0076] 图29描绘了总群体(左)和经历过ERT的群体(右)在第12周、第26周、第38周和第52周时相对于基线的步态(gait)、楼梯(stairs)、高尔斯(gowers)、椅子(chair)(GSGC)变化。西帕葡糖苷酶(Cipaglucosidase)α/麦格司他组:接受ATB200/麦格司他治疗的受试者;阿葡糖苷酶α/安慰剂:接受阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗的受试者。

[0077] 图30描绘了总群体(左)和经历过ERT的群体(右)在第12周、第26周、第38周和第52周时相对于基线的身体功能变化的患者报告结果测量信息系统(PROMIS)。

[0078] 图31描绘了总群体(左)和经历过ERT的群体(右)在第12周、第26周、第38周和第52周时疲劳相对于基线变化的PROMIS。

[0079] 图32描绘了总群体(左)和经历过ERT的群体(右)在第12周、第26周、第38周和第52周时肌酸激酶(CK)生物标志物相对于基线的变化。

[0080] 图33描绘了总群体(左)和经历过ERT的群体(右)在第12周、第26周、第38周和第52周时尿己糖四糖(Hex4)生物标志物相对于基线的变化。

[0081] 图34显示了总群体(左)和经历过ERT的群体(右)的主要、次要和生物标志物终点热图。AT-GAA组:接受ATB200/麦格司他治疗的受试者;阿葡糖苷酶α组:接受阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗的受试者。

[0082] 图35总结了ATB200-03研究的安全性数据。AT-GAA组:接受ATB200/麦格司他治疗的受试者;阿葡糖苷酶α组:接受阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗的受试者。TEAE:治疗中出现的不良事件;IAR:输注相关反应。

[0083] 图36总结了ATB200-03研究的结果。

[0084] 图37描述了ATB200-03研究的研究目标和统计方法。

[0085] 图38描述了ATB200-03研究的主要终点和次要终点。

[0086] 图39总结了ATB200-03研究的患者处置。

[0087] 图40总结了ATB200-03研究的基线群体统计特征。

[0088] 图41显示了ATB200-03研究中总群体(n＝122)(A组)和经历过ERT的患者(n＝95)(B组)中根据基线状态对6MWD和FVC相对于基线的变化进行的亚组分析。

[0089] 图42显示了ATB200-03研究中任何组中≥10％患者中的治疗中出现的不良事件(TEAE)的列表。

[0090] 图43显示了I/II期ATB200-02研究的研究设计。星号表示之前的ERT是使用20mg/kg阿葡糖苷酶αQ2W。Q2W,每2周

[0091] 图44显示了针对ATB200-02研究报告的终点和队列的总结。

[0092] 图45显示了ATB200-02研究的基线特征和患者处置。星号表示1名ERT初治患者在进入研究前>6个月接受了1剂阿葡糖苷酶α。M表示米;M:F表示男女比例;N/A表示不适用;SD表示标准偏差。

[0093] 图46A-图46D显示了ATB200-02研究中经历过ERT的受试者(图46A、46C)和ERT初治受试者(图46B、46D)的6分钟步行距离(6MWD)随时间推移相对于基线(CFBL)的平均变化。

[0094] 图47A-图47B显示了ATB200-02研究中经历过ERT的受试者(图47A)和ERT初治受试者(图47B)的预测坐姿用力肺活量(FVC)百分比随时间推移相对于基线(CFBL)的平均变化。

[0095] 图48A-图48B显示了在ATB200-02研究中经历过ERT的受试者(图48A)和ERT初治受试者(图48B)中徒手肌力测试(MMT)下肢得分随时间相对于基线(CFBL)的平均变化。

[0096] 图49A-图49B显示了ATB200-02研究中经历过ERT的受试者和ERT初治受试者的尿己糖四糖(Hex4)水平(图49A)和血浆肌酸激酶(CK)水平(图49B)相对于基线(CFBL)的平均变化百分比。

[0097] 图50显示了ATB200-02研究中治疗中出现的不良事件(TEAE)的总结。星号表示弥

漫性大B细胞淋巴瘤。IAR表示输注相关反应;TEAE是指治疗中出现的不良事件,发病日期在研究药物首次给药时或之后。

[0098] 图51显示了西帕葡糖苷酶α/麦格司他和艾夫糖苷酶α对经历过ERT的受试者中6MWD和预测FVC(坐姿)百分比相对于基线的变化的长期影响的比较。

[0099] 图52显示了西帕葡糖苷酶α/麦格司他和艾夫糖苷酶α对ERT初治受试者中6MWD和预测FVC(坐姿)百分比相对于基线的变化的长期影响的比较。

[0100] 图53A-图53B显示了在用阿葡糖苷酶α治疗经历过ERT的受试者期间预测的6分钟步行测试(6MWT)百分比。图53B显示了从图53A仅从第2年开始重新绘制的数据。

[0101] 图54显示了在用阿葡糖苷酶α治疗经历过ERT的受试者期间预测的FVC百分比。

[0102] 图55显示了ATB200-02研究的队列2(不能行走的经历过ERT的患者)的终点和队列的总结。

[0103] 图56显示了ATB200-02研究的队列2(不能行走的经历过ERT的患者)的基线特征和患者处置。星号表示基线评估是在研究药物首个剂量(20mg/kg西帕葡糖苷酶α+260mg麦格司他共同施用剂量)施用时或之前的最后一个非缺失结果。M:F表示男女比例;SD表示标准偏差。

[0104] 图57显示了队列2(不能行走的经历过ERT的患者)中预测的坐姿用力肺活量(FVC)百分比随时间相对于基线(CFBL)的平均变化。

[0105] 图58显示了ATB200-02研究中队列2(不能行走的经历过ERT的患者)的治疗中出现的不良事件(TEAE)的总结。星号表示荨麻疹被认为是IAR。IAR表示输注相关反应;TEAE是指治疗中出现的不良事件,发病日期在研究药物首次给药时或之后。

[0106] 图59显示了系统文献回顾(SLR)鉴定的七项临床研究的基线特征

[0107] 图60显示了对于每个确定的研究,当从基线改变时,6MWD(m)和FVC(%预测)的纵向功效结果相比于试验。

[0108] 图61显示了6MWD(m)和坐姿FVC(%预测)的网络。

[0109] 图62显示了基本情况情景(主要分析)中6MWD的相对效果估计的森林图,具有95%的置信区间。

[0110] 图63显示了基本情况情景(主要分析)中FVC的相对效果估计的森林图,具有95%的置信区间。

[0111] 图64显示了根据ERT持续时间对6MWD的相对效果估计的森林图,具有95%的置信区间。

[0112] 图65显示了根据ERT持续时间对FVC的相对效果估计的森林图,具有95%的置信区间。

[0113] 图66显示了基本情况情景(敏感性分析)中6MWD的相对效果估计的森林图,具有95%的置信区间。

[0114] 图67显示了基本情况情景(敏感性分析)中FVC的相对效果估计的森林图,具有95%的置信区间。

[0115] 图68显示了ATB200-07研究的研究设计和患者处置。

[0116] 图69总结了ATB200-07研究的基线群体统计特征。

[0117] 图70A-70B显示了ATB200-07研究中经历过ERT的患者和ERT初治患者的预测

6MWD％(图70A)和6MWD％(图70B)相对于基线的平均变化。

[0118] 图71显示了ATB200-07研究中经历过ERT的患者和ERT初治患者的预测FVC％相对于基线的平均变化

[0119] 图72显示了ATB200-07研究中经历过ERT的患者和ERT初治患者的血清CK相对于基线的平均变化

[0120] 图73显示了ATB200-07研究中经历过ERT的患者和ERT初治患者的尿Hex4相对于基线的平均变化。

[0121] 图74显示了ATB200-07研究的安全性总结。

[0122] 图75是显示了阿葡糖苷酶α和三种西帕葡糖苷酶α制剂的通过LC-FLD分析鉴定的2-AA标记的N-聚糖分布的图。

[0123] 图76A描绘了模拟处理的阿葡糖苷酶α、模拟处理的西帕葡糖苷酶α和紫色酸性磷酸酶(PAP)处理的西帕葡糖苷酶α的蛋白质印迹的蛋白质加载对照。图76B显示了描绘76A中所示样品的GAA蛋白质水平的蛋白质印迹。76C显示了远蛋白质印迹(far-western blot)的变体,以确定76A中样品的CIMPR结合。76D是显示76A中所示样品的4MU-α-葡糖苷酶活性的图。

[0124] 图77A是显示在各种rhGAA浓度下骨骼肌成肌细胞内内化的rhGAA摄取的图。图77B比较了在20nM GAA浓度下模拟处理的阿葡糖苷酶α、模拟处理的西帕葡糖苷酶α和PAP处理的西帕葡糖苷酶α在庞贝病患者衍生的成纤维细胞中的GAA活性。图77C是描绘摄取后图77B中所示的细胞裂解物的GAA含量的蛋白质印迹。

[0125] 图78的图显示长期西帕葡糖苷酶α施用(20mg/kg,12次两周一次的推注)相比于阿葡糖苷酶α按平均最小纤维直径(FD)对Gaa KO小鼠股四头肌的肌纤维大小的影响。

[0126] 图79说明了研究ATB200-02的设计示意图。

[0127] 图80说明了研究ATB200-03的设计示意图。

[0128] 图81是研究ATB200-03中不包括受试者4005-2511的ERT初治群体的MMT下肢得分随时间(ITT-LOCF群体)相对于基线的变化的LS平均值(SE)的线图。

[0129] 图82是研究ATB200-03中不包括受试者4005-2511的ERT初治群体的PROMIS-身体功能总得分随时间(ITT-LOCF群体)相对于基线的变化的LS平均值(SE)的线图。

[0130] 图83是研究ATB200-03中不包括受试者4005-2511的ERT初治群体的PROMIS-疲劳总得分(ITT-LOCF群体)变化的LS均值(SE)的线图。

[0131] 图84是研究ATB200-03中不包括受试者4005-2511的ERT初治群体的GSGC总得分随时间(ITT-LOCF群体)相对于基线的变化的LS平均值(SE)的线图。

[0132] 图85的条形图总结了研究ATB200-03中ITT群体(不包括离群值受试者4005-2511)的所有终点。

[0133] 图86的条形图说明了研究ATB200-03中与基线相比在第52周的SGIC整体身体健康状况。

[0134] 图87A的条形图说明了在研究ATB200-03中按合并范围分组(ITT-LOCF,不包括受试者4005-2511)的在第52周在6MWD(米)方面相对于基线有变化的受试者比例。图87B的条形图说明了在研究ATB200-03中按合并范围分组(ITT-LOCF,不包括受试者4005-2511)的在第52周在坐姿预测FVC％方面相对于基线有变化的受试者比例。图87C的条形图说明了在研

究ATB200-03中在第52周(ITT-LOCF不包括受试者4005-2511)对6MWD和预测FVC％具有综合应答的受试者比例。

[0135] 图88是研究ATB200-07提供的不包括受试者4005-2511的OLE-ES群体的6MWD(米)随时间相对于研究ATB200-03基线的变化的平均值(±SE)的线图。

[0136] 图89是研究ATB200-07提供的不包括受试者4005-2511的OLE-ES群体的坐姿预测FVC％随时间相对于研究ATB200-03基线的变化的平均值(±SE)的线图。

[0137] 图90A是研究ATB200-07提供的不包括受试者4005-2511的OLE-ES群体的CK(U/L)随时间相对于研究ATB200-03基线的变化的平均值(±SE)的线图。图90B是研究ATB200-07提供的不包括受试者4005-2511的OLE-ES群体的Hex4(mmol/mol肌酐)随时间相对于研究ATB200-03基线的变化的平均值(±SE)的线图。

具体实施方式

[0138] 本文提供了用于治疗庞贝病的方法,这些方法包括向个体施用重组人α-葡糖苷酶(rhGAA)和酶稳定剂,其中该方法提供长期益处(例如,运动功能、肌肉力量和/或肺功能的改善和/或稳定)。本文提供的方法还具有良好的安全性。本文提供的方法的长期益处是对目前用于治疗庞贝病的酶替代疗法(ERT)选项的改善。

[0139] 目前用于治疗庞贝病的ERT选项在有限的时间内提供改善,然后缓慢衰退。2012年,对在迟发性庞贝病(LOPD)受试者中进行的所有研究进行了系统回顾(Toscano和Schoser,(2013)J Neurol[神经病学杂志]260,951-959)。该回顾包括来自已发表研究的368名LOPD受试者的数据,其中包括27名青少年受试者(年龄范围:2至17岁)和接受阿葡糖苷酶α治疗至少2年的251名成年受试者。结果表明,>30％的受试者在使用阿葡糖苷酶α治疗期间并未表现出初步改善,并且尽管接受了治疗,但肌肉和呼吸功能仍持续恶化。在最初对阿葡糖苷酶α治疗有应答的受试者组中,另外几项长期研究表明,改善通常只持续大约2年。此后,受试者通常在开始逐渐衰退之前处于平稳状态。

[0140] 2012年,作为英国国家健康研究所的一部分的英国健康技术评估计划(Wyatt等人,(2012)Health Technol Assess[健康技术评估]16(39))根据对接受了目前获批的ERT标准护理-阿葡糖苷酶α的81例庞贝病患者(包括婴幼儿型和迟发型(儿童和成人))的纵向数据进行的回顾,发布了相关建议。对庞贝病进展的关键标志物(用力肺活量、通气依赖性、活动能力、6分钟步行测试、肌肉力量和体重指数)进行了评估,并建立了与阿葡糖苷酶α疗法的治疗时间相关的模型。该评估结果表明,在开始使用阿葡糖苷酶α进行ERT治疗后的头2年内,LOPD患者的FVC、6分钟步行距离和肌肉力量均有所改善,而在此时间范围之后继续治疗则出现衰退。此外,一项针对38名接受阿葡糖苷酶α治疗的LOPD受试者的为期3年的研究表明,受试者的运动功能在治疗的第一年显示出改善,第二年保持总体稳定,并且第三年开始衰退(Regnery等人,(2012)Journal of Inherited Metabolic Disease[遗传性代谢疾病杂志]35:837-845)。

[0141] 此外,一份提供对LUMIZYME®(赛诺菲健赞公司(Sanofi Genzyme))3期研究的10年随访的报告表明,在治疗的最初几年中,受试者的运动和肺功能有所改善,之后,随着持续的治疗,受试者开始缓慢衰退(van der Ploeg等人,(2017)European journal of neurology[欧洲神经病学杂志]24.6:768-e31)。在这项研究中,从接受治疗的第3年到第6

年,预测的基线6分钟步行距离的百分比平均衰退了约10%,其中约80%的受试者经历了衰退。

[0142] 阿葡糖苷酶α最严重的耐受性问题是输注相关反应(IAR)的发生,在某些情况下可能包括危及生命的过敏反应或其他严重的过敏应答(MYOZYME® Summary of Product Characteristics[产品特性总结],2018年12月)。这些事件的管理包括减少剂量、降低输注速率和延长输注时间,以及剂量中断或中止。抗组胺药和类固醇的术前用药(输注前)也经常用于预防和减少与阿葡糖苷酶α输注相关的IAR和超敏反应的发生和严重程度。尽管采取了这些措施,庞贝病患者仍可能会经历IAR,并且一些患者无法耐受目前批准的ERT的常规输注。

[0143] 2017年,欧洲庞贝病协会(European Pompe Consortium)对文献进行了系统回顾,该协会是一个由来自11个欧洲国家的庞贝病领域的专家组成的网络(van der Ploeg等人,(2017)European journal of neurology[欧洲神经病学杂志]24.6:768-e31)。根据从一项临床研究和43项观察性研究中获得的数据(共涵盖586名成年受试者),协会评估了ERT在组水平上的影响的证据。目前欧洲庞贝病协会的共识是,一旦发生严重的IAR或疾病症状进行性临床恶化,以及出现高中和性抗体(Ab)滴度(这将有效地使现有的ERT治疗失效),则中止ERT疗法。欧洲庞贝病协会的共识建议还包括如果在ERT停止后疾病进展和临床恶化再次发生,则考虑重新开始ERT治疗。

[0144] rhGAA分子的细胞摄取由专门的碳水化合物甘露糖-6-磷酸(M6P)促进,M6P与存在于靶细胞(如肌肉细胞)上的阳离子非依赖性甘露糖-6-磷酸受体(CIMPR)结合。结合后,rhGAA分子被靶细胞吸收,随后被转运到细胞内的溶酶体中。然而,大多数常规rhGAA产品缺乏高总含量的带有单-M6P和双-M6P的N-聚糖(即,分别为带有一个M6P残基的N-聚糖或带有两个M6P残基的N-聚糖),这限制了它们通过CIMPR和溶酶体递送被细胞摄取,从而使得常规的酶替代疗法不够有效。例如,虽然20mg/kg或更高剂量的常规rhGAA产品确实可以改善庞贝病的一些方面,但除其他外,它们无法充分地(i)治疗潜在的细胞功能障碍;(ii)恢复肌肉结构;或(iii)减少许多靶组织(诸如骨骼肌)中积累的糖原,以逆转疾病进展。此外,更高的剂量对受试者以及治疗受试者的医学专业人员施加额外的负担,如延长静脉内施用rhGAA所需的输注时间。

[0145] GAA或rhGAA的糖基化可以通过磷酸转移酶和坎菲尔德(Canfield)等人,美国专利号6,534,300所描述的揭酶(uncovering enzyme)在体外进行酶促修饰以产生M6P基团。然而,酶糖基化不能被充分控制,并且可以产生具有不期望的免疫学性质和药理学性质的rhGAA。经酶促修饰的rhGAA可能只含有高甘露糖寡糖,所有这些高甘露糖寡糖都可以潜在地在体外用磷酸转移酶或揭酶(uncovering enzyme)进行酶促磷酸化。通过对GAA进行体外酶处理而产生的糖基化模式是有问题的,因为额外的末端甘露糖残基,特别是非磷酸化的末端甘露糖残基负面影响经修饰的rhGAA的药代动力学。当在体内施用此类酶促修饰的产物时,这些甘露糖基团增加了GAA的非生产性清除,增加了免疫细胞对酶促修饰的GAA的摄取,并且由于更少的GAA到达靶组织(如骨骼肌肌细胞)而降低了rhGAA治疗功效。例如,末端非磷酸化甘露糖残基是肝和脾中的甘露糖受体的已知配体,其导致酶促修饰的rhGAA的快速清除和rhGAA对靶组织的靶向降低。此外,具有含末端非磷酸化甘露糖残基的高甘露糖N-聚糖的酶促修饰的GAA的糖基化模式类似于酵母和霉菌中产生的糖蛋白上的糖基化模式,

并且增加了引发对酶促修饰的rhGAA的免疫或过敏反应(如危及生命的严重过敏(过敏性)或超敏反应)的风险。

[0146] 与常规重组rhGAA产品和体外磷酸化rhGAA相比,根据本披露的双组分疗法中使用的rhGAA具有优化的N-聚糖谱,用于增强生物分布和溶酶体摄取,从而使施用后rhGAA的非生产性清除最小化。本披露为稳定或恶化的庞贝病患者提供了一种在细胞水平上逆转疾病进展的有效疗法—包括比目前的标准护理更有效地清除溶酶体糖原。用包含rhGAA和酶稳定剂(例如,麦格司他)的本披露的双组分疗法治疗的患者表现出显著的健康改善,包括肌肉力量、运动功能和/或肺功能的改善和/或稳定,和/或包括疾病进展的逆转。

[0147] 此外,三项随机临床试验(LOTS:阿葡糖苷酶α相比于安慰剂;COMET:艾夫糖苷酶α相比于阿葡糖苷酶α;和PROPEL:西帕葡糖苷酶α/麦格司他相比于阿葡糖苷酶α)的比较共享作为主要或次要终点的6MWD和预测FVC%。使用来自PROPEL随机临床试验(RCT)的患者水平数据加上来自其他RCT、I/II期和开放标签扩展试验的汇总已发表数据,进行了多层次网络元回归,调整了各种基线协变量,包括之前的ERT持续时间。基本情况情景的协变量类似于PROPEL群体(初治和经历过ERT),并分析了52周时6MWD和FVC相对于基线的变化。在6MWD和FVC方面,西帕葡糖苷酶α/麦格司他比阿葡糖苷酶α和艾夫糖苷酶α更有利,其中6MWD相对效果分别为16.3米(95%置信区间:9.6-24.3)和29.5米(7.4-52.6),并且FVC相对效果分别为3.1%(2.4-3.8)和2.8%(1.0-4.6)。对于初治受试者,西帕葡糖苷酶α/麦格司他的相对影响对于两个终点仍然显著,除了对于FVC西帕葡糖苷酶α/麦格司他相比于Aval:0.4%(-0.8-1.7)。这些发现表明,对于LOPD患者在关键运动和呼吸终点方面,尤其是在经历过ERT的群体中,西帕葡糖苷酶α/麦格司他可能具有临床差异。

定义

[0148] 在本说明书中使用的术语在本披露的上下文中以及在使用每个术语的特定上下文中通常具有其在本领域中的普通含义。下文或说明书中的其他地方讨论了某些术语,以在描述本披露的组合物和方法以及如何制备和使用它们时向从业者提供额外的指导。冠词“一个/种(a和an)”是指一个/种或多于一个/种(即,至少一个/种)该冠词的语法宾语。除非上下文另有明确说明,否则术语“或”是指术语“和/或”,并且可与术语“和/或”互换使用。在本申请中,单数的使用包括复数,除非另外明确说明。此外,术语“包括(including)”、以及其他形式如“包括(includes)”和“包括(included)”的使用不是限制性的。本文描述的任何范围将被理解为包括端点和端点之间的所有值。在本说明书中,除非上下文需要,否则归因于表达语言或必要的含义,词语“包含(comprises)”,或变化形式如“包含(comprising)”是以包容性的意义使用,即用于指明所述特征的存在,但是不排除在本披露的不同实施例中存在或添加的其他特征。

[0149] 术语“GAA”是指人酸性α-葡糖苷酶(GAA)(催化溶酶体糖原的α-1,4-糖苷键和α-1,6-糖苷键的水解的酶),以及是指GAA氨基酸序列的插入、相关或取代变体以及发挥酶活性的更长GAA序列的片段。人酸性α-葡糖苷酶是由GAA基因(美国国家生物技术信息中心(NCBI)基因ID 2548)编码的,该基因已经被定位至染色体17的长臂上(位置17q25.2-q25.3)。GAA的示例性氨基酸序列是NP 000143.2,其通过引用并入。本披露还包括编码NP 000143.2的氨基酸序列的DNA序列。目前已经在人类GAA基因中鉴定了超过500个突变,其中的许多突变与庞贝病有关。导致该酸性α-葡糖苷酶的错折叠或错加工的突变包括T1064C

(Leu355Pro)和C2104T(Arg702Cys)。另外,影响酶的成熟和加工的GAA突变包括Leu405Pro和Met519Thr。在氨基酸残基516-521处的保守六肽WIDMNE(SEQ ID NO:7)对于酸性α-葡糖苷酶蛋白的活性是必需的。如本文中所使用,缩写"GAA"旨在意指人酸性α-葡糖苷酶,然而斜体缩写"GAA"旨在意指编码人酸性α-葡糖苷酶的人类基因。斜体缩写"Gaa"旨在意指编码非人酸性α-葡糖苷酶类的非人类基因,包括但不限于大鼠或小鼠基因,并且缩写"Gaa"旨在意指非人酸性α-葡糖苷酶类。

[0150] 术语"rhGAA"旨在意指重组人酸性α-葡糖苷酶并用于区分合成和/或重组产生的GAA(例如,从CHO细胞或用编码GAA的DNA转化的其他宿主细胞产生的GAA)与内源性GAA。因此,rhGAA不包括内源性GAA。术语"rhGAA"涵盖单个rhGAA分子的群体。本文提供了rhGAA分子群的特征。术语"常规rhGAA产品"旨在指含有阿葡糖苷酶α(例如LUMIZYME®或MYOZYME®)或艾夫糖苷酶α(例如NEXVIAZYME®)的产品。

[0151] 术语"遗传修饰的"或"重组的"是指在引入包括编码基因产物的编码序列的核酸、连同控制编码序列表达的调节元件后,表达特定基因产物(如rhGAA)的细胞(如CHO细胞)。核酸的引入可以通过本领域已知的任何方法来完成,包括基因靶向和同源重组。如本文所用,该术语还包括已经工程化(例如通过基因激活技术)以表达或过表达通常由这种细胞不能正常表达的内源基因或基因产物的细胞。

[0152] 如本文中所使用,术语"阿葡糖苷酶α"旨在意指被鉴定为[199-精氨酸,223-组氨酸]前体原-α-葡糖苷酶(人)的重组人酸性α-葡糖苷酶;化学文摘登记号420794-05-0。阿葡糖苷酶α被批准在美国由赛诺菲健赞公司销售,作为产品LUMIZYME®和MYOZYME®。

[0153] 如本文所用,术语"艾夫糖苷酶α"旨在指鉴定为艾夫糖苷酶α-ngpt的重组人酸性α-葡糖苷酶;化学文摘登记号1802558-87-7。艾夫糖苷酶α被批准在美国由赛诺菲健赞公司销售,作为产品NEXVIAZYME®。

[0154] 如本文所用,术语"ATB200"意指在国际专利申请号PCT/2015/053252、美国专利号10,208,299和美国专利号10,961,522(其披露内容通过引用以其整体并入本文)中描述的重组人酸性α-葡糖苷酶,。ATB200也称为"西帕葡糖苷酶α"。在一些实施例中,"ATB200"是指具有高含量的带有单-M6P和双-M6P的N-聚糖的rhGAA,其由GA-ATB200细胞系产生并使用本文所述的方法纯化。

[0155] 如本文所用,术语"聚糖"旨在是指共价结合至蛋白质或多肽上的氨基酸残基的寡糖。如本文所用,术语"N-聚糖"或"N-联聚糖"旨在是指通过共价结合至天冬酰胺残基的氮原子而附接至蛋白质或多肽上的天冬酰胺残基的多糖链。在一些实施例中,附接到rhGAA的N-聚糖单元可以通过液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS),利用仪器,如赛默科技™(Thermo Scientific™)Orbitrap Velos Pro™质谱仪、赛默科技™ Orbitrap Fusion™ Lumos Tribid™质谱仪或沃特斯(Waters) Xevo®G2-XS QTof质谱仪来确定。

如本文所用,术语"带有单-M6P的聚糖"或"带有双-M6P的聚糖"意指作为所有N-聚糖类型的一部分的单磷酸化(单-M6P)或双磷酸化(双-M6P)的N-聚糖单元,除非特别说明是高甘露糖N-聚糖类型或杂合N-聚糖类型。

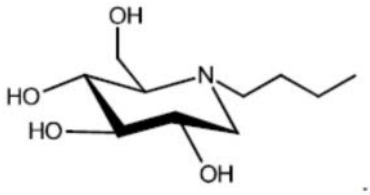
[0156] 如本文所用,用力肺活量或"FVC"是在受试者进行尽可能深的呼吸后可以从受试者的肺部用力呼出的空气量。

[0157] 如本文所用,"六分钟步行测试"(6MWT)是一种测试,用于测量个体在坚硬平坦表

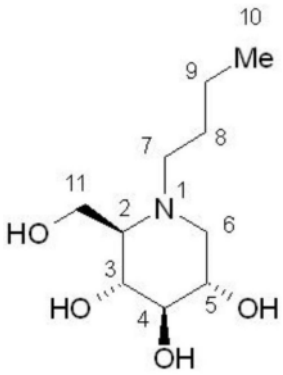
面上总共能够步行六分钟的距离。测试是通过让个体在六分钟内走尽可能远的距离来进行的。

[0158] 如本文所用,“十米步行测试”(10MWT)是用于测量穿着步行鞋的个体在平坦表面上步行十米所花费的时间的测试。

[0159] 如本文所用,化合物麦格司他(miglustat),也称为N-丁基-1-脱氧野尻霉素或NB-DNJ或(2R,3R,4R,5S)-1-丁基-2-(羟甲基)哌啶-3,4,5-三醇,是具有以下化学式的化合物:



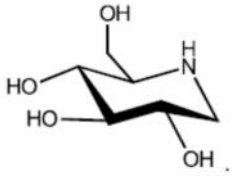
可替代地显示为:



[0160] 麦格司他的一种配制品作为针对1型戈谢病的单一疗法在商品名ZAVESCA®下进行商业销售。在一些实施例中,麦格司他被称为AT2221。

[0161] 如下讨论,麦格司他的药学上可接受的盐也可以用于本披露。当使用麦格司他的盐时,将调整该盐的剂量,这样使得患者接受的麦格司他的剂量与使用麦格司他游离碱时接受的量是相当的。

[0162] 如本文所用,化合物脱氧野尻霉素(duvoglustat),又称为1-脱氧野尻霉素或DNJ或(2R,3R,4R,5S)-2-(羟甲基)哌啶-3,4,5-三醇,是具有以下化学式的化合物:



[0163] 如本文所用,术语“酶稳定剂”旨在指特异性结合酸性α-葡糖苷酶并具有以下一种或多种作用的分子:

- 增强蛋白质的稳定分子构象的形成;
- 增强蛋白质从内质网到另一个细胞位置,优选天然的细胞位置的适当运输,以便于防止蛋白质的内质网-相关降解;
- 防止构象不稳定或错误折叠的蛋白质的聚集;
- 恢复和/或增强蛋白质的至少部分的野生型功能、稳定性,和/或活性;
- 改善具有酸性α-葡糖苷酶的细胞的表型或功能;和/或

• 稳定体外和/或体内(例如,在患者的血液中)酸性α-葡糖苷酶。

[0164] 酶稳定剂有时也被称为“药理学伴侣”。

[0165] 因此,酸性α-葡糖苷酶的酶稳定剂是结合酸性α-葡糖苷酶,导致酸性α-葡糖苷酶的适当的折叠、运输、非聚集和/或活性的分子。在至少一个实施例中,酶稳定剂是麦格司他。酸性α-葡糖苷酶的酶稳定剂的另一个非限制性实例是脱氧野尻霉素。

[0166] 如本文中所使用,术语“药学上可接受的”旨在指代当施用给人类时,生理上可耐受的,并且通常不会产生不良反应的分子实体以及组合物。优选地,如本文所使用的,术语“药学上可接受的”意指由联邦或州政府的管理机构批准的或在美国药典或用于动物(更特别地用于人)的其他公认的药典中列出的。如本文中所使用,术语“载剂”旨在指代与化合物一起施用的稀释剂、助剂、赋形剂、或媒剂。适合的药物载剂是本领域已知的,并且在至少一个实施例中,其描述于E.W.Martin的“Remington's Pharmaceutical Sciences[雷明顿药物科学]”,第18版,或其他版本。

[0167] 如本文所用,术语“药学上可接受的盐”旨在意指在合理医学判断的范围内,适合与人类和低等动物的组织接触使用而无不当毒性、刺激、过敏反应等,与合理的效益/风险比相称的,通常是水或油可溶的或可分散的,并且对于它们的预期用途有效的盐。术语包括药学上可接受的酸加成盐以及药学上可接受的碱加成盐。适合的盐的列表发现于,例如,S.M.Berge等人,J.Pharm.Sci.[药物科学杂志],1977,66,第1-19页,通过引用并入本文。本文所用的术语“药学上可接受的酸加成盐”意指那些保留游离碱的生物有效性和性质并且在生物学上或其他方面不是不期望的与无机酸形成的盐。本文所用的术语“药学上可接受的碱加成盐”意指那些保留游离酸的生物学有效性和性质并且在生物学上或其他方面不是不期望的与无机碱形成的盐。

[0168] 如本文所用,术语“缓冲液”是指含有弱酸及其共轭碱或弱碱及其共轭酸的溶液,其有助于防止pH变化。

[0169] 如本文中所使用,术语“治疗有效剂量”和“有效量”旨在意指足够导致受试者治疗反应的酸性α-葡糖苷酶的量、和/或麦格司他的量、和/或其双组分疗法的量。

[0170] 治疗应答还可能包括分子应答,例如糖原累积、溶酶体增殖和自噬区的形成。可以通过比较用本文描述的rhGAA治疗前后肌肉活检的生理和分子应答来评估治疗应答。例如,活检样品中存在的糖原量可用作确定治疗应答的标志物。另一个实例包括生物标志物,例如溶酶体相关蛋白1(LAMP-1)、微管相关蛋白1轻链3(LC3)和戴斯富林蛋白,它们可以用作溶酶体贮积功能障碍的指标。其他生物标志物包括肌肉损伤或损害的生物标志物,例如肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天冬氨酸氨基转移酶(AST),和/或糖原累积的标志物,例如尿己糖四糖(Hex4)。例如,在用本文描述的rhGAA治疗之前和之后收集的肌肉活检可以用识别生物标志物之一的抗体染色。治疗应答还可以包括疲劳的减轻或其他患者报告的结果(例如,日常生活活动、幸福感等)的改善。

[0171] 如本文中所使用,术语“酶替代疗法”或“ERT”旨在指代将非天然的、经纯化的酶引入具有这种酶缺乏的个体中。施用的蛋白可以从自然来源或通过重组表达而获得。所述术语也指将经纯化的酶引入个体,所述个体在其他情况下需要或受益于施用的经纯化的酶。在至少一个实施例中,这样的个体患有酶缺乏。该引入的酶可以是在体外产生的经纯化的重组酶,或从离体组织或体液例如像胎盘或动物奶,或从植物纯化的蛋白质。

[0172] 如本文所用,术语“双组分疗法”旨在是指同时地或依次施用两个或更多个个体化治疗的任何疗法。在一些实施例中,与单独进行每种疗法时的效果相比,双组分疗法的结果是增强的。增强可以包括,与通过单独进行治疗时所实现的结果相比,可以产生有利的结果的不同治疗的效果的任何改进。增强效应或结果可以包括协同增强,其中增强效应高于单独进行每种疗法的相加效应;相加增强,其中增强效应实质上等于单独进行每种疗法的相加效应;或小于相加效应,其中增强效应低于单独进行每种疗法的相加效应,但是仍然好于单独进行每种疗法的效应。增强的效果可以通过本领域已知的可以测量的治疗功效或结果的任何手段来测量。

[0173] “庞贝病”是指以缺乏酸性α葡糖苷酶(GAA)活性为特征的常染色体隐性LSD,该常染色体隐性LSD损害溶酶体糖原代谢。酶缺乏导致溶酶体糖原累积,并导致进行性骨骼肌无力、心脏功能降低、呼吸功能不全、和/或疾病晚期的CNS损伤。GAA基因中的遗传突变导致较低的表达或产生具有改变的稳定性和/或最终导致疾病的生物活性的酶的突变体形式,(通常参见,赫希霍恩(Hirschhorn)R,1995,糖原贮积症II型:酸性a-葡糖苷酶(酸性麦芽糖酶)缺乏(Glycogen Storage Disease Type II:Acid a-Glucosidase(Acid Maltase) Deficiency),遗传疾病的代谢和分子基础(The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease),斯克里维尔(Scriver)等人编辑,麦格劳希尔出版社(McGraw-Hill),纽约,第7版,第2443-2464页)。庞贝病(婴儿、儿童和成人)的三种公认的临床形式与残留的α-葡糖苷酶活性水平相关(雷乌谢尔(Reuser)AJ等人,1995,糖原贮积病II型(酸性麦芽糖酶缺乏症),肌肉和神经补充(Muscle&Nerve Supplement)3,S61-S69)。婴儿庞贝病(I型或A型)是最常见和最严重的,特征是在生命的第二年内不能茁壮成长、全身性低渗、心脏肥大和心肺功能衰竭。儿童庞贝病(II型或B型)的严重程度是中等的,并且特征在于没有心脏肥大的肌肉症状的优势。儿童庞贝病个体通常由于呼吸衰竭而在达到20岁之前死亡。成人庞贝病(III型或C型)通常在青春期或最晚至第六十年呈现为缓慢进展性肌病(费利西亚(Felicia)K J等人,1995,成人发病酸性麦芽糖酶缺乏症的临床变异:受影响同胞的报告和文学评论(Clinical Variability in Adult-Onset Acid Maltase Deficiency:Report of Affected Sibs and Review of the Literature),医学(Medicine)74,131-135)。在庞贝病中,已经显示α-葡糖苷酶在翻译后通过糖基化、磷酸化、以及蛋白水解加工而被大幅修饰。通过溶酶体中的蛋白水解将110千道尔顿(kDa)前体转化为76和70kDa成熟形式是最佳糖原催化所需的。如本文所用,术语“庞贝病”是指所有类型的庞贝病。本申请中公开的配制品和给药方案可用于治疗例如I型、II型或III型庞贝病。

[0174] 庞贝病现在被认为是连续的表型谱,临床上最严重、快速进展的表型是典型的婴儿型庞贝病(IOPD),较不严重、缓慢进展的表型是迟发性庞贝病(LOPD)。迟发性庞贝病可在儿童期或成年期出现,并且不会出现临床上明显的心脏受累(Leslie和Bailey,2017)。当发生在LOPD类别的儿科亚群中时,迟发性庞贝病通常被称为青少年发病的庞贝病。与经典IOPD相比,LOPD的进展速度较慢,由于近端下肢和上肢的肌肉、脊柱旁肌肉和膈肌受累,大多数患者会出现进行性肢带无力和呼吸衰竭。临床表现包括行走困难、爬楼梯和日常生活的运动活动进展性受限,并发展为需要行走支持,然后依赖轮椅(Reuser等人,2001)。该疾病的临床表现因呼吸系统受累而加重,最初表现为睡眠呼吸障碍和端坐呼吸(仰卧位呼吸急促)。庞贝病的进展性通常导致使用有创机械辅助通气。生化异常包括血清肌酸激酶(CK)

水平升高(肌肉损伤的生物标志物)和尿已糖四糖(Hex4)水平升高(An,等人2005;Young,等人2009)。LOPD患者的预期寿命可以从儿童早期到成年晚期,具体取决于发病年龄、疾病进展速度、呼吸肌受累程度和合并症的存在(Hagemans等人,2004)。如果不进行治疗,患有庞贝病的成年人的预期寿命会大大缩短(Gungor等人,2011年)。

[0175] 如本文所用,“显著”是指统计显著性。该术语指的是两个治疗组之间存在差异的统计证据。它可以定义为当零假设实际上为真时做出拒绝零假设决定的概率。通常使用从适当的比较统计分析得出的p值<0.05来做出决定。参见,例如,实例9。

[0176] “受试者”或“患者”优选地是人,尽管也可以治疗患有涉及糖原累积的病症的其他哺乳动物和非人动物。受试者可以是患有庞贝病或其他糖原贮积或累积障碍的胎儿、新生儿、幼儿、儿童或成人。被治疗个体的一个实例是患有GSD-II(例如婴儿GSD-II、儿童GSD-II、或成人发病GSD-II)的个体(胎儿、新生儿、幼儿、儿童、青少年或成年人)。该个体可以具有残留的GAA活性,或没有可测量的活性。例如,患有GSD-II的个体可以具有小于约1%正常GAA活性(婴儿GSD-II)的GAA活性、约1%-10%正常GAA活性(儿童GSD-II)的GAA活性、或约10%-40%正常GAA活性(成人GSD-II)的GAA活性。在一些实施例中,受试者或患者是“经历过ERT”或“转换ERT”的患者,指的是先前接受过酶替代疗法的庞贝病患者。在一些实施例中,“经历过ERT”或“ERT转换”患者是已经接受或目前正在接受阿葡糖苷酶α超过或等于24个月的庞贝病患者。在一些实施例中,“经历过ERT”或“ERT转换”的患者是庞贝病患者,其在用目前批准的ERT(例如,MYOZYME®或LUMIZYME®)时正在恶化。在一些实施例中,受试者是确诊为迟发性庞贝病(酸性α-葡糖苷酶(GAA)缺乏症)的成年患者(例如,18岁或以上),他们之前接受过酶替代疗法(ERT)。在一些实施例中,受试者是患有迟发性庞贝病(溶酶体酸性α-葡糖苷酶[GAA]缺乏症)的体重≥40kg的成年人(例如,18岁及以上),他们的疾病在用酶替代疗法(ERT)时进展。在一些实施例中,受试者或患者是“ERT初治”的患者,指的是先前未接受过酶替代疗法的庞贝病患者。在某些实施例中,受试者或患者是能行走的(例如,能行走的ERT转换患者或能行走的ERT初治患者)。在某些实施例中,受试者或患者是不能行走的(例如,不能行走的ERT转换患者)。可通过六分钟步行测试(6MWT)确定能行走或不能行走状态。在一些实施例中,能行走的患者是能够在6MWT中行走至少200米的庞贝病患者。在一些实施例中,不能行走的患者是无法独立行走或坐轮椅的庞贝病患者。在一些实施例中,受试者正在使用有效的避孕措施。在一些实施例中,受试者和/或受试者的伴侣正在使用高效的避孕,例如在持续和正确使用时导致低失败率(例如,每年<1%)的避孕。高效避孕方法的实例包括但不限于:完全禁欲;与抑制排卵相关的联合(含雌激素和孕激素)激素避孕;与抑制排卵相关的口服、阴道内、透皮仅含孕激素的激素避孕:口服、注射、植入式宫内节育器;宫内激素释放系统;双侧输卵管阻塞;和输精管切除术。在一些实施例中,受试者是绝经后的。在一些实施例中,受试者不具有生育潜力。在一些实施例中,受试者永久不育。在一些实施例中,受试者未怀孕。在一些实施例中,受试者未进行母乳喂养。

[0177] 在一些实施例中,患者基于以下至少一项的记录被诊断为迟发性庞贝病:(1)GAA酶缺乏;和/或(2)编码人酸性α-葡糖苷酶(GAA)基因分型的基因。在一些实施例中,患者是18岁或以上。在一些实施例中,患者之前接受过酶替代疗法(ERT)。在一些实施例中,患者正在接受当前批准的ERT(例如,MYOZYME®或LUMIZYME®)。在一些实施例中,如果具有生殖潜力,男性和女性患者都同意在整个治疗期间和最后一次给药后长达90天内使用高

效避孕方法。在一些实施例中,正在用β2-受体激动剂或非选择性β-受体阻滞剂(例如普萘洛尔、纳多洛尔、卡维地洛)的患者维持适当并由治疗医师确定的稳定剂量。

[0178] 如本文所用的术语“治疗”(treat或treatment)是指与疾病相关的一种或多种症状的改善,延迟疾病的一种或多种症状的发病,和/或减轻疾病的一种或多种症状的严重性或频率。例如,治疗可以是指心脏状况的改进(例如,舒张末期和/或收缩末期容积的增加,或者通常在GSD-II中发现的进行性心肌病的减少或改善)或肺功能的改进(例如,超过基线能力的啼哭肺活量的增加,和/或在啼哭期间氧脱饱和的正常化);神经发育和/或运动技能的改进(例如,AIMS评分的增加);受疾病影响的个体的组织中的糖原水平的降低;或这些效应的任何组合。在一个优选实施例中,治疗包括改进心脏状况,具体是减少GSD-II相关性心肌病。

[0179] 如本文所用,术语“改善”、“增加”和“减少”表示相对于基线测量值或来自对照治疗的相应值(诸如在开始本文所述的治疗之前在同一个体中的测量值、在不存在本文所述的治疗的情况下在对照个体(或多个对照个体)中的测量值,或对照治疗后的测量值)的值。对照个体是患有与被治疗个体相同形式的GSD-II(婴儿、儿童或成人发病)的个体,该对照个体与所治疗个体的年龄大约相同(以确保在治疗的个体和对照个体中的疾病阶段是可比较的)。在一些实施例中,对照治疗包括施用阿葡糖苷酶α和酶稳定剂的安慰剂(参见实例9)。

[0180] 如本文所用,短语“稳定运动功能”、“稳定肺功能”和类似术语是指减少或阻止运动和肺功能的衰退,和/或恢复运动和/或肺功能。由于预期未经治疗的庞贝病患者运动功能和肺功能会随着时间的推移而显著衰退,因此运动和/肺功能恶化速率的增加和/或运动和/肺功能的增强证明了本文所述治疗的益处。此外,由于经历过ERT的庞贝病患者的运动和/或肺功能通常随着时间的推移持续衰退,因此使用本文所述的疗法稳定运动和/或肺功能可包括与接受先前ERT治疗(例如,MYOZYME®或LUMIZYME®)的此类患者相比,减少和/或阻止运动和/或肺功能的衰退。

[0181] 如本文中所使用,术语“约”和“大约”旨在指代对于给定测量的性质或精度的测量的量而言可接受程度的误差。例如,如本领域中所理解的,误差的程度可以由为测量提供的有效数字的数值来指示,并且包括但不限于对于测量所报告的最精确的有效数字中±1的变化。典型的示例性误差程度是在给定值或值范围的20%(%)内,优选在10%内,并且更优选在5%内。除非另有说明,本文给出的数字量是近似的,意味着当没有明确说明时,可以推断出术语“约”或“大约”。

[0182] 本文引用的所有参考文献、文章、出版物、专利、专利出版物和专利申请均出于所有目的通过引用以其整体并入。然而,对本文所引用的任何参考文献、文章、出版物、专利、专利出版物和专利申请的提及不被视为并且不应当被视为对其构成有效的现有技术或形成世界上任何国家的公知常识的一部分的承认或任何形式的暗示。

[0183] 在此使用的小节标题仅是为了编排的目的并且不应该被解释为对所述主题进行限制。

重组人酸性α-葡糖苷酶(rhGAA)

[0184] 在一些实施例中,重组人酸性α-葡糖苷酶(rhGAA)是具有如SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、或SEQ ID NO:6中所示的氨基酸序列的酶。在一些实施例

中,rhGAA由如SEQ ID NO:2中所示的核苷酸序列编码。

表1.核苷酸序列和蛋白质序列

SEQ ID NO	序列
1	MGVRHPPCSHRLLAVCALVSLATAALLGHILLHDFLLVPRELSGSSPVLEETHPAHQQGA SRPGPRDAQAHPGRPRAVPTQCDVPPNSRFDCAPDKAITQEQCEARGCCYIPAKQGLQGA QMGQPWCFFPPSYPSYKLENLSSSEMGYTATLTRTTPTFFPKDILTLRLDVMMETENRLH FTIKDPANRRYEVPLETPRVHSRAPSPLYSVEFSEEPFGVIVHRQLDGRVLLNTTVAPLF FADQFLQLSTSLPSQYITGLAEHLSPLMLSTSWTRITLWNRDLAPTPGANLYGSHPFYLA

SEQ ID NO	序列
	LEDGGSAHGVFLLNSNAMDVVLQPSPALSWRSTGGILDVYIFLGPEPKSVVQQYLDVVGY PFMPPYWGLGFHLCRWGYSSTAITRQVVENMTRAHFPLDVQWNDLDYMDSRRDFTFNKDG FRDFPAMVQELHQGGRRYMMIVDPAISSSGPAGSYRPYDEGLRRGVFITNETGQPLIGKV WPGSTAFPDFTNPTALAWWEDMVAEFHDQVPFDGMWIDMNEPSNFIRGSEDGCPNNELEN PPYVPGVVGGTLQAATICASSHQFLSTHYNLHNLYGLTEAIASHRALVKARGTRPFVISR STFAGHGRYAGHWTGDVWSSWEQLASSVPEILQFNLLGVPLVGADVCGFLGNTSEELCVR WTQLGAFYPFMRNHNSLLSLPQEPYSFSEPAQQAMRKALTLRYALLPHLYTLFHQAHVAG ETVARPLFLEFPKDSSTWTVDHQLLWGEALLITPVLQAGKAEVTGYFPLGTWYDLQTVPI EALGSLPPPPAAPREPAIHSEGQWVTLPAPLDTINVHLRAGYIIPLQGPGLTTTESRQQP MALAVALTKGGEARGELFWDDGESLEVLERGAYTQVIFLARNNTIVNELVRVTSEGAGLQ LQKVTVLGVATAPQQVLSNGVPVSNFTYSPDTKVLDICVSLLMGEQFLVSWC
2	cagttgggaaagctgaggttgtcgccggggccgcgggtggaggtcggggatgaggcagcaggt aggacagtgacctcggtgacgcgaaggaccccggccacctctaggttctcctcgtccgcccgt tgttcagcgagggaggctctgggcctgccgcagctgacggggaaactgaggcacggagcgggc ctgtaggagctgtccaggccatctccaaccatgggagtgaggcacccgccctgctcccaccgg ctcctggccgtctgcgccctcgtgtccttggcaaccgctgcactcctggggcacatcctactc catgatttcctgctggttccccgagagctgagtggctcctccccagtcctggaggagactcac ccagctcaccagcagggagccagcagaccagggccccgggatgcccaggcacaccccggccgt cccagagcagtgcccacacagtgcgacgtccccccaacagccgcttcgattgcgcccctgac aaggccatcacccaggaacagtgcgaggcccgcggctgctgctacatccctgcaaagcagggg ctgcagggagcccagatggggcagccctggtgcttcttcccacccagctaccccagctacaag ctggagaacctgagctcctctgaaatgggctacacggccaccctgacccgtaccacccccacc ttcttccccaaggacatcctgaccctgcggctggacgtgatgatggagactgagaaccgcctc cacttcacgatcaaagatccagctaacaggcgctacgaggtgcccttggagaccccgcgtgtc cacagccgggcaccgtccccactctacagcgtggagttctccgaggagcccttcggggtgatc gtgcaccggcagctggacggccgcgtgctgctgaacacgacggtggcgcccctgttctttgcg gaccagttccttcagctgtccacctcgctgccctcgcagtatatcacaggcctcgccgagcac ctcagtcccctgatgctcagcaccagctggaccaggatcaccctgtggaaccgggaccttgcg cccacgcccggtgcgaacctctacgggtctcacccttttctacctggcgctggaggacggcggg tcggcacacggggtgttcctgctaaacagcaatgccatggatgtggtcctgcagccgagccct gcccttagctggaggtcgacaggtgggatcctggatgtctacatcttcctgggcccagagccc aagagcgtggtgcagcagtacctggacgttgtgggatacccgttcatgccgccatactggggc ctgggcttccacctgtgccgctggggctactcctccaccgctatcacccgccaggtggtggag aacatgaccagggcccacttccccctggacgtccaatggaacgacctggactacatggactcc cggagggacttcacgttcaacaaggatggcttccgggacttcccggccatggtgcaggagctg caccagggcggccggcgctacatgatgatcgtggatcctgccatcagcagctcgggccctgcc gggagctacaggccctacgacgagggtctgcggagggggttttcatcaccaacgagaccggc cagccgctgattgggaaggtatggcccgggtccactgccttccccgacttcaccaaccccaca gccctggcctggtgggaggacatggtggctgagttccatgaccaggtgcccttcgacggcatg

SEQ ID NO	序列
	tggattgacatgaacgagccttccaacttcatcagaggctctgaggacggctgccccaacaat gagctggagaacccaccctacgtgcctggggtggttgggggaccctccaggcggccaccatc tgtgcctccagccaccagtttctctccacacactacaacctgcacaacctctacggcctgacc gaagccatcgcctcccacagggcgctggtgaaggctcgggggacacgcccatttgtgatctcc cgctcgacctttgctggccacggccgatacgccggccactggacgggggacgtgtggagctcc tgggagcagctcgcctcctccgtgccagaaatcctgcagtttaacctgctgggggtgcctctg gtcggggccgacgtctgcggcttcctgggcaacacctcagaggagctgtgtgtgcgctggacc cagctgggggccttctacccctttcatgcggaaccacaacagcctgctcagtctgccccaggag ccgtacagcttcagcgagccggcccagcaggccatgaggaaggccctcaccctgcgctacgca ctcctcccccacctctacacactgttccaccaggcccacgtcgcgggggagaccgtggcccgg cccctcttcctggagttccccaaggactctagcacctggactgtggaccaccagctcctgtgg ggggaggccctgctcatcaccccagtgctccaggccgggaaggccgaagtgactggctacttc cccttgggcacatggtacgacctgcagacggtgccaatagaggcccttggcagcctcccaccc ccacctgcagctccccgtgagccagccatccacagcgaggggcagtgggtgacgctgccggcc cccctggacaccatcaacgtccacctccgggctgggtacatcatcccccctgcagggccctggc ctcacaaccacagagtcccgccagcagcccatggccctggctgtggccctgaccaagggtgga gaggcccgaggggagctgttctgggacgatggagagagcctggaagtgctggagcgaggggcc tacacacaggtcatcttcctggccaggaataacacgatcgtgaatgagctggtacgtgtgacc agtgagggagctggcctgcagctgcagaaggtgactgtcctgggcgtggccacggcgccccag caggtcctctccaacggtgtccctgtctccaacttcacctacagccccgacaccaaggtcctg gacatctgtgtctcgctgttgatgggagagcagtttctcgtcagctggtgttagccgggcgga gtgtgttagtctctccagagggaggctggttccccagggaagcagagcctgtgtgcgggcagc agctgtgtgcgggcctgggggttgcatgtgtcacctggagctgggcactaaccattccaagcc gccgcatcgcttgtttccacctcctgggccggggctctggcccccaacgtgtctaggagagct ttctccctagatcgcactgtgggccggggcctggagggctgctctgtgttaataagattgtaa ggtttgccctcctcacctgttgccggcatgcgggtagtattagccacccccctccatctgttc ccagcaccggagaaggggtgctcaggtggaggtgtggggtatgcacctgagctcctgcttcg cgcctgctgctctgccccaacgcgaccgcttcccggctgcccagagggctggatgcctgccgg tccccgagcaagcctgggaactcaggaaaattcacaggacttgggagattctaaatcttaagt gcaattattttaataaaaggggcatttggaatc
3	MGVRHPPCSHRLLAVCALVSLATAALLGHILLHDFLLVPRELSGSSPVLEETHPAHQQGA SRPGPRDAQAHPGRPRAVPTQCDVPPNSRFDCAPDKAITQEQCEARGCCYIPAKQGLQGA QMGQPWCFFPPSYPSYKLENLSSSEMGYTATLTRTTPTFFPKDILTLRLDVMMETENRLH FTIKDPANRRYEVPLETPRVHSRAPSPLYSVEFSEEPFGVIVHRQLDGRVLLNTTVAPLF FADQFLQLSTSLPSQYITGLAEHLSPLMLSTSWTRITLWNRDLAPTPGANLYGSHPFYLA LEDGGSAHGVFLLNSNAMDVVLQPSPALSWRSTGGILDVYIFLGPEPKSVVQQYLDVVGY PFMPPYWGLGFHLCRWGYSSTAITRQVVENMTRAHFPLDVQWNDLDYMDSRRDFTFNKDG FRDFPAMVQELHQGGRRYMMIVDPAISSSGPAGSYRPYDEGLRRGVFITNETGQPLIGKV WPGSTAFPDFTNPTALAWWEDMVAEFHDQVPFDGMWIDMNEPSNFIRGSEDGCPNNELEN

SEQ ID NO	序列
	PPYVPGVVGGTLQAATICASSHQFLSTHYNLHNLYGLTEAIASHRALVKARGTRPFVISR STFAGHGRYAGHWTGDVWSSWEQLASSVPEILQFNLLGVPLVGADVCGFLGNTSEELCVR WTQLGAFYPFMRNHNSLLSLPQEPYSFSEPAQQAMRKALTLRYALLPHLYTLFHQAHVAG ETVARPLFLEFPKDSSTWTVDHQLLWGEALLITPVLQAGKAEVTGYFPLGTWYDLQTVPI EALGSLPPPPAAPREPAIHSEGQWVTLPAPLDTINVHLRAGYIIPLQGPGLTTTESRQQP MALAVALTKGGEARGELFWDDGESLEVLERGAYTQVIFLARNNTIVNELVRVTSEGAGLQ LQKVTVLGVATAPQQVLSNGVPVSNFTYSPDTKVLDICVSLLMGEQFLVSWC
4	MGVRHPPCSHRLLAVCALVSLATAALLGHILLHDFLLVPRELSGSSPVLEETHPAHQQGA SRPGPRDAQAHPGRPRAVPTQCDVPPNSRFDCAPDKAITQEQCEARGCCYIPAKQGLQGA QMGQPWCFFPPSYPSYKLENLSSSEMGYTATLTRTTPTFFPKDILTLRLDVMMETENRLH FTIKDPANRRYEVPLETPHVHSRAPSPLYSVEFSEEPFGVIVRRQLDGRVLLNTTVAPLF FADQFLQLSTSLPSQYITGLAEHLSPLMLSTSWTRITLWNRDLAPTPGANLYGSHPFYLA LEDGGSAHGVFLLNSNAMDVVLQPSPALSWRSTGGILDVYIFLGPEPKSVVQQYLDVVGY PFMPPYWGLGFHLCRWGYSSTAITRQVVENMTRAHFPLDVQWNDLDYMDSRRDFTFNKDG FRDFPAMVQELHQGGRRYMMIVDPAISSSGPAGSYRPYDEGLRRGVFITNETGQPLIGKV WPGSTAFPDFTNPTALAWWEDMVAEFHDQVPFDGMWIDMNEPSNFIRGSEDGCPNNELEN PPYVPGVVGGTLQAATICASSHQFLSTHYNLHNLYGLTEAIASHRALVKARGTRPFVISR STFAGHGRYAGHWTGDVWSSWEQLASSVPEILQFNLLGVPLVGADVCGFLGNTSEELCVR WTQLGAFYPFMRNHNSLLSLPQEPYSFSEPAQQAMRKALTLRYALLPHLYTLFHQAHVAG ETVARPLFLEFPKDSSTWTVDHQLLWGEALLITPVLQAGKAEVTGYFPLGTWYDLQTVPV EALGSLPPPPAAPREPAIHSEGQWVTLPAPLDTINVHLRAGYIIPLQGPGLTTTESRQQP MALAVALTKGGEARGELFWDDGESLEVLERGAYTQVIFLARNNTIVNELVRVTSEGAGLQ LQKVTVLGVATAPQQVLSNGVPVSNFTYSPDTKVLDICVSLLMGEQFLVSWC
5	QQGASRPGPRDAQAHPGRPRAVPTQCDVPPNSRFDCAPDKAITQEQCEARGCCYIPAKQG LQGAQMGQPWCFFPPSYPSYKLENLSSSEMGYTATLTRTTPTFFPKDILTLRLDVMMETE NRLHFTIKDPANRRYEVPLETPRVHSRAPSPLYSVEFSEEPFGVIVHRQLDGRVLLNTTV APLFFADQFLQLSTSLPSQYITGLAEHLSPLMLSTSWTRITLWNRDLAPTPGANLYGSHP FYLALEDGGSAHGVFLLNSNAMDVVLQPSPALSWRSTGGILDVYIFLGPEPKSVVQQYLD VVGYPFMPPYWGLGFHLCRWGYSSTAITRQVVENMTRAHFPLDVQWNDLDYMDSRRDFTF NKDGFRDFPAMVQELHQGGRRYMMIVDPAISSSGPAGSYRPYDEGLRRGVFITNETGQPL IGKVWPGSTAFPDFTNPTALAWWEDMVAEFHDQVPFDGMWIDMNEPSNFIRGSEDGCPNN ELENPPYVPGVVGGTLQAATICASSHQFLSTHYNLHNLYGLTEAIASHRALVKARGTRPF VISRSTFAGHGRYAGHWTGDVWSSWEQLASSVPEILQFNLLGVPLVGADVCGFLGNTSEE LCVRWTQLGAFYPFMRNHNSLLSLPQEPYSFSEPAQQAMRKALTLRYALLPHLYTLFHQA HVAGETVARPLFLEFPKDSSTWTVDHQLLWGEALLITPVLQAGKAEVTGYFPLGTWYDLQ TVPIEALGSLPPPPAAPREPAIHSEGQWVTLPAPLDTINVHLRAGYIIPLQGPGLTTTES RQQPMALAVALTKGGEARGELFWDDGESLEVLERGAYTQVIFLARNNTIVNELVRVTSEG AGLQLQKVTVLGVATAPQQVLSNGVPVSNFTYSPDTKVLDICVSLLMGEQFLVSWC
6	QQGASRPGPRDAQAHPGRPRAVPTQCDVPPNSRFDCAPDKAITQEQCEARGCCYIPAKQGLQG

SEQ ID NO	序列
	AQMGQPWCFFPPSYPSYKLENLSSSEMGYTATLTRTTPTFFPKDILTLRLDVMMETENRLHFT IKDPANRRYEVPLETPHVHSRAPSPLYSVEFSEEPFGVIVRRQLDGRVLLNTTVAPLFFADQF LQLSTSLPSQYITGLAEHLSPLMLSTSWTRITLWNRDLAPTPGANLYGSHPFYLALEDGGSAH GVFLLNSNAMDVVLQPSPALSWRSTGGILDVYIFLGPEPKSVVQQYLDVVGYPFMPPYWGLGF HLCRWGYSSTAITRQVVENMTRAHFPLDVQWNDLDYMDSRRDFTFNKDGFRDFPAMVQELHQG GRRYMMIVDPAISSSGPAGSYRPYDEGLRRGVFITNETGQPLIGKVWPGSTAFPDFTNPTALA WWEDMVAEFHDQVPFDGMWIDMNEPSNFIRGSEDGCPNNELENPPYVPGVVGGTLQAATICAS SHQFLSTHYNLHNLYGLTEAIASHRALVKARGTRPFVISRSTFAGHGRYAGHWTGDVWSSWEQ LASSVPEILQFNLLGVPLVGADVCGFLGNTSEELCVRWTQLGAFYPFMRNHNSLLSLPQEPYS FSEPAQQAMRKALTLRYALLPHLYTLFHQAHVAGETVARPLFLEFPKDSSTWTVDHQLLWGEA LLITPVLQAGKAEVTGYFPLGTWYDLQTVPVEALGSLPPPPAAPREPAIHSEGQWVTLPAPLD TINVHLRAGYIIPLQGPGLTTTESRQQPMALAVALTKGGEARGELFWDDGESLEVLERGAYTQ VIFLARNNTIVNELVRVTSEGAGLQLQKVTVLGVATAPQQVLSNGVPVSNFTYSPDTKVLDIC VSLLMGEQFLVSWC

[0185] 在一些实施例中,rhGAA具有如美国专利号8,592,362中所述的SEQ ID NO:1中所示的GAA氨基酸序列,并且具有GenBank登录号AHE24104.1(GI:568760974)。在一些实施例中,rhGAA具有如SEQ ID NO:2中编码的GAA氨基酸序列(具有GenBank登录号Y00839.1的mRNA序列)。在一些实施例中,rhGAA具有如SEQ ID NO:3中所示的GAA氨基酸序列。在一些实施例中,rhGAA具有如SEQ ID NO:4中所示的GAA氨基酸序列,并且具有国家生物技术信息中心(NCBI)登录号NP_000143.2或UniProtKB登录号P10253。

[0186] 在一些实施例中,rhGAA最初表达为具有如SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:4中所示的全长952个氨基酸序列的野生型GAA,并且rhGAA经历去除一部分氨基酸(例如前56个氨基酸)的胞内加工。因此,由宿主细胞分泌的rhGAA可以具有比细胞内最初表达的rhGAA更短的氨基酸序列。在一些实施例中,该更短的蛋白质可以具有在SEQ ID NO:5中所示的氨基酸序列,其与SEQ ID NO:1不同仅在于已经去除了SEQ ID NO:1的包括信号肽和前体肽的前56个氨基酸,因此产生具有896个氨基酸的蛋白质。在一些实施例中,该更短的蛋白质可以具有在SEQ ID NO:6中所示的氨基酸序列,其与SEQ ID NO:4不同仅在于已经去除了SEQ ID NO:4的包括信号肽和前体肽的前56个氨基酸,因此产生具有896个氨基酸的蛋白质。氨基酸数目的其他变化也是可能的,如相对由SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5或SEQ ID NO:6描述的氨基酸序列具有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或更多个缺失、取代和/或插入。在一些实施例中,该rhGAA产物包括具有不同氨基酸长度的重组人酸性α-葡糖苷酶分子的混合物。

[0187] 在一些实施例中,rhGAA包含与SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:6至少80%、85%、90%、95%、98%或99%相同的氨基酸序列。可以使用不同比对算法和/或程序来计算两个序列之间的一致性,包括可用作GCG序列分析包(威斯康辛大学,麦迪逊市,威斯康辛州)的一部分的FASTA或BLAST,并且可以与例如,默认设置一起使用。例如,考虑与本文所述的特定多肽具有至少80%、85%、90%、95%、98%或99%一致性,并且优选地表现出基本相同功能的多肽,连同编码此类多肽的多核苷酸。除非另有说明,相似性分数将基于BLOSUM62的使用。当

使用BLASTP时,相似性百分比是基于BLASTP阳性得分,并且序列同一性百分比是基于BLASTP同一性得分。BLASTP“同一性”显示了高得分序列对中相同的总残基的数量和分数;并且BLASTP“正”表示比对得分为正值并且彼此相似的残基的数量和分数。本披露考虑和涵盖具有与本文披露的氨基酸序列具有这些程度的同一性或相似性或任何中间程度的同一性或相似性的氨基酸序列。相似多肽的多核苷酸序列可使用遗传密码推导出,并且可以通过常规手段(特别地通过使用遗传密码来反向翻译其氨基酸序列)获得。

[0188] 在一些实施例中,rhGAA在蛋白质中的一个或多个氨基酸残基处经历翻译后和/或化学修饰。例如,甲硫氨酸和色氨酸残基可以经历氧化反应。作为另一个实例,可以进一步修饰SEQ ID NO:6中的N末端谷氨酰胺以形成焦谷氨酸。作为另一个实例,天冬酰胺残基可以经历脱酰胺作用以形成天冬氨酸。作为又另一个实例,天冬氨酸残基可以经历异构化作用以形成异天冬氨酸。作为又另一个实例,蛋白质中未配对的半胱氨酸残基可以与游离谷胱甘肽和/或半胱氨酸形成二硫键。因此,在一些实施例中,酶最初表达为具有如SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5中所示的氨基酸序列,或由SEQ ID NO:2编码的氨基酸序列,并且该酶经历这些翻译后修饰和/或化学修饰中的一个或多个。此类修饰也在本披露的范围内。

rhGAA的N-连接糖基化

[0189] 单个rhGAA分子上有七个潜在的N-连接糖基化位点。这些潜在的糖基化位点在SEQ ID NO:6的以下位置处:N84、N177、N334、N414、N596、N826和N869。相似地,对于SEQ ID NO:4的全长氨基酸序列,这些潜在的糖基化位点在以下位置处:N140、N233、N390、N470、N652、N882和N925。取决于天冬酰胺残基的位置,rhGAA的其他变体可以具有相似的糖基化位点。通常,除了X不能是His或Pro以外,在蛋白质氨基酸序列中的Asn-X-Ser或Asn-X-Thr序列指示潜在的糖基化位点。

[0190] 本文所述的rhGAA分子在其N-聚糖上平均可具有1、2、3或4个甘露糖-6-磷酸(M6P)基团。例如,在rhGAA分子上的唯一一个N-聚糖可以带有M6P(单-磷酸化的或单-M6P),单个N-聚糖可以带有两个M6P基团(双-磷酸化的或双-M6P),或在相同rhGAA分子上的两个不同N-聚糖可以各自带有单个M6P基团。在一些实施例中,本文所述的rhGAA分子在其N-聚糖上平均每摩尔rhGAA具有3-4mol M6P基团。重组人酸性α-葡糖苷酶分子还可以具有不带有M6P基团的N-聚糖。在另一个实施例中,rhGAA平均包含大于2.5mol M6P/mol rhGAA和大于4mol唾液酸/mol rhGAA。在一些实施例中,rhGAA平均包含约3-3.5mol M6P/mol rhGAA。在一些实施例中,rhGAA平均包含约4-5.4mol唾液酸/mol rhGAA。平均地,rhGAA上N-聚糖的至少约3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%或20%可以呈单-M6P N-聚糖形式,且平均地,rhGAA上N-聚糖的至少约0.5%、1%、1.5%、2.0%、2.5%、3.0%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或20%是呈双-M6P N-聚糖形式,且平均地,少于25%的总rhGAA不含与CIMPR结合的磷酸化N-聚糖。在一些实施例中,rhGAA上平均约10%至约14%的总N-聚糖是单磷酸化的。在一些实施例中,rhGAA上平均约7%至约25%的总N-聚糖是双磷酸化的。在一些实施例中,rhGAA平均包含至少约1.0、1.1、1.2或1.3mol双-M6P/mol rhGAA。

[0191] 本文所述的rhGAA可具有平均0.5至7.0mol M6P/mol rhGAA或其任何中间值或其子范围,包括0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5或7.0mol M6P/

mol rhGAA。可以将该rhGAA分级以提供具有不同平均数量的带有单-M6P或带有双-M6P的N-聚糖的rhGAA制剂,从而通过选择特定级分或通过选择性地组合不同级分来允许进一步定制靶向靶组织中溶酶体的rhGAA。

[0192] 在一些实施例中,可以将在rhGAA上高达60%的N-聚糖完全唾液酸化,例如,可以将高达10%、20%、30%、40%、50%或60%的N-聚糖被完全唾液酸化。在一些实施例中,rhGAA上不超过50%的N-聚糖被完全唾液酸化。在一些实施例中,总N-聚糖的4%至20%被完全唾液酸化。在其他实施例中,rhGAA上不多于5%、10%、20%、或30%的N-聚糖携带唾液酸和末端半乳糖残基(Gal)。这一范围包括所有的中间值和子范围,例如,rhGAA上7%至30%的总N-聚糖可以携带唾液酸和末端半乳糖。在又其他实施例中,在rhGAA上不多于5%、10%、15%、16%、17%、18%、19%或20%的N-聚糖仅具有末端半乳糖并且不包含唾液酸。该范围包括所有中间值和子范围,例如组合物中rhGAA上的从8%至19%的总N-聚糖可以仅具有末端半乳糖并且不包含唾液酸。

[0193] 在一些实施例中,rhGAA上总N-聚糖的30%至60%、35%至60%、40%至60%、45%至60%、50%至60%或55%至60%是复合型N-聚糖;或rhGAA上总N-聚糖的不超过1%、2%、3%、4%、5%、6%或7%是杂合型N-聚糖;rhGAA上总N-聚糖的不超过5%、10%、15%、20%、25%或30%是非磷酸化的高甘露糖型N-聚糖;rhGAA上总N-聚糖的至少5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%或15%是单磷酸化的高甘露糖型N-聚糖;和/或rhGAA上总N-聚糖的至少1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、或20%是双磷酸化的高甘露糖型N-聚糖。这些值包括所有的中间值和子范围。rhGAA可以满足以上所述的一个或多个含量范围。

[0194] 在一些实施例中,rhGAA平均可携带2.0至8.0摩尔唾液酸残基/摩尔rhGAA。该范围包括所有中间值及其子范围,包括2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5和8.0mol唾液酸残基/mol rhGAA。不受理论的约束,据信带有唾液酸残基的N-聚糖单元的存在可以通过脱唾液酸蛋白受体来防止rhGAA的非生产性清除。

[0195] 在一个或多个实施例中,rhGAA在某些潜在N-糖基化位点处具有某种N-糖基化特征。在一些实施例中,rhGAA具有七个潜在N-糖基化位点。在一些实施例中,在第一潜在N-糖基化位点处至少20%的rhGAA是被磷酸化的(例如,SEQ ID NO:6的N84以及SEQ ID NO:4的N140)。例如,在第一潜在N-糖基化位点处,至少20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的rhGAA可以被磷酸化。这种磷酸化作用可以是单-M6P和/或双-M6P单元的结果。在一些实施例中,在第一潜在N-糖基化位点处,至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的rhGAA带有单-M6P单元。在一些实施例中,在第一潜在N-糖基化位点处,至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的rhGAA带有双-M6P单元。在一些实施例中,rhGAA在第一潜在N-糖基化位点处包含平均约1.4mol M6P(单-M6P和双-M6P)/mol rhGAA。在一些实施例中,rhGAA在第一潜在N-糖基化位点处包含约至少0.5mol双-M6P/mol rhGAA。在一些实施例中,rhGAA在第一潜在N-糖基化位点处包含约0.25mol单-M6P/mol rhGAA。在一些实施例中,rhGAA在第一潜在N-糖基化位点处包含平均约0.2mol至约0.3mol唾液酸/mol rhGAA。在至少一个实施例中,rhGAA包含如图6A所示的第一潜在N-糖基化位点占据率和如图6B所示的

N-糖基化谱。在至少一个实施例中,rhGAA包含如图19A所示的第一潜在N-糖基化位点占据率和如图19B或图20B所示的N-糖基化谱。

[0196] 在一些实施例中,在第二潜在N-糖基化位点处至少20%的rhGAA是被磷酸化的(例如,SEQ ID NO:6的N177以及SEQ ID NO:4的N223)。例如,在第二N-糖基化位点处,至少20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的rhGAA可以被磷酸化。这种磷酸化作用可以是单-M6P和/或双-M6P单元的结果。在一些实施例中,在第二N-糖基化位点处,至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的rhGAA带有单-M6P单元。在一些实施例中,在第二N-糖基化位点处,至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的rhGAA带有双-M6P单元。在一些实施例中,rhGAA在第二潜在N-糖基化位点处包含平均约0.5mol M6P(单-M6P和双-M6P)/mol rhGAA。在一些实施例中,rhGAA在第二潜在N-糖基化位点处包含约0.4至约0.6mol单-M6P/mol rhGAA。在至少一个实施例中,rhGAA包含如图6A所示的第二潜在N-糖基化位点占据率和如图6C所示的N-糖基化谱。在至少一个实施例中,rhGAA包含如图19A所示的第二潜在N-糖基化位点占据率和如图19C或图20B所示的N-糖基化谱。

[0197] 在一个或多个实施例中,在第三潜在N-糖基化位点处(例如,SEQ ID NO:6的N334,以及SEQ ID NO:4的N390)至少5%的rhGAA是被磷酸化的。在其他实施例中,在第三潜在N-糖基化位点处,少于5%、10%、15%、20%或25%的rhGAA是磷酸化的。例如,该第三潜在N-糖基化位点可以具有作为主要种类的非-磷酸化的高甘露糖N-聚糖、二-、三-、和四-触角复合N-聚糖,以及杂合N-聚糖的混合物。在一些实施例中,在第三潜在N-糖基化位点处,至少3%、5%、8%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或50%的rhGAA是被唾液酸化的。在一些实施例中,rhGAA在第三潜在N-糖基化位点处包含平均约0.9至约1.2mol唾液酸/mol rhGAA。在至少一个实施例中,rhGAA包含如图6A所示的第三潜在N-糖基化位点占据率和如图6D所示的N-糖基化谱。在至少一个实施例中,rhGAA包含如图19A所示的第三潜在N-糖基化位点占据率和如图19D或图20B所示的N-糖基化谱。

[0198] 在一些实施例中,在第四潜在N-糖基化位点处至少20%的rhGAA是被磷酸化的(例如,SEQ ID NO:6的N414以及SEQ ID NO:4的N470)。例如,在第四潜在N-糖基化位点处,至少20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的rhGAA可以被磷酸化。这种磷酸化作用可以是单-M6P和/或双-M6P单元的结果。在一些实施例中,在第四潜在N-糖基化位点处,至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的rhGAA带有单-M6P单元。在一些实施例中,在第四潜在N-糖基化位点处,至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的rhGAA带有双-M6P单元。在一些实施例中,在第四潜在N-糖基化位点处,至少3%、5%、8%、10%、15%、20%或25%的rhGAA是被唾液酸化的。在一些实施例中,rhGAA在第四潜在N-糖基化位点处包含平均约1.4mol M6P(单-M6P和双-M6P)/mol rhGAA。在一些实施例中,rhGAA在第四潜在N-糖基化位点处包含约0.4至约0.6mol双-M6P/mol rhGAA。在一些实施例中,rhGAA在第四潜在N-糖基化位点处包含约0.3至约0.4mol单-M6P/mol rhGAA。在至少一个实施例中,rhGAA包含如图6A所示的第四潜在N-糖基化位点占据率和如图6E所示的N-糖基化谱。在至少一个实施

例中,rhGAA包含如图19A所示的第四潜在N-糖基化位点占据率和如图19E或图20B所示的N-糖基化谱。

[0199] 在一些实施例中,在第五潜在N-糖基化位点处至少5%的rhGAA是被磷酸化的(例如,SEQ ID NO:6的N596以及SEQ ID NO:4的N692)。在其他实施例中,在第五潜在N-糖基化位点处,少于5%、10%、15%、20%或25%的rhGAA是磷酸化的。例如,第五潜在N-糖基化位点可以具有作为主要种类的岩藻糖化的二-触角复合N-聚糖。在一些实施例中,在第五潜在N-糖基化位点处,至少3%、5%、8%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的rhGAA是被唾液酸化的。在一些实施例中,rhGAA在第五潜在N-糖基化位点处包含平均约0.8至约0.9mol唾液酸/mol rhGAA。在至少一个实施例中,rhGAA包含如图6A所示的第五潜在N-糖基化位点占据率和如图6F所示的N-糖基化谱。在至少一个实施例中,rhGAA包含如图19A所示的第五潜在N-糖基化位点占据率和如图19F或图20B所示的N-糖基化谱。

[0200] 在一些实施例中,在第六N-糖基化位点处至少5%的rhGAA是被磷酸化的(例如,SEQ ID NO:6的N826以及SEQ ID NO:4的N882)。在其他实施例中,在第六N-糖基化位点处,少于5%、10%、15%、20%或25%的rhGAA是被磷酸化的。例如,该第六N-糖基化位点可以具有作为主要种类的二-、三-、和四-触角复合N-聚糖的混合物。在一些实施例中,在第六N-糖基化位点处,至少3%、5%、8%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的rhGAA是被唾液酸化的。在一些实施例中,rhGAA在第六潜在N-糖基化位点处包含平均约1.5至约4.2mol唾液酸/mol rhGAA。在一些实施例中,rhGAA在第六潜在N-糖基化位点处包含平均约0.9mol乙酰化唾液酸/mol rhGAA。在一些实施例中,rhGAA在第六潜在N-糖基化位点处包含平均至少0.05mol具有聚-N-乙酰基-D-乳糖胺残基(聚-LacNAc)的聚糖种类/mol rhGAA。在一些实施例中,超过10%的rhGAA在第六潜在N-糖基化位点处包含带有聚-LacNAc残基的聚糖。在至少一个实施例中,rhGAA包含如图6A所示的第六潜在N-糖基化位点占据率和如图6G所示的N-糖基化谱。在至少一个实施例中,rhGAA包含如图19A所示的第六潜在N-糖基化位点占据率和如图19G或图20B所示的N-糖基化谱。

[0201] 在一些实施例中,在第七潜在N-糖基化位点处至少5%的rhGAA是被磷酸化的(例如,SEQ ID NO:6的N869以及SEQ ID NO:4的N925)。在其他实施例中,在第七潜在N-糖基化位点处,少于5%、10%、15%、20%或25%的rhGAA是磷酸化的。在一些实施例中,在第七潜在N-糖基化位点处,少于40%、45%、50%、55%、60%或65%的rhGAA具有任何N-聚糖。在一些实施例中,在第七潜在N-糖基化位点处,至少30%、35%或40%的rhGAA具有N-聚糖。在一些实施例中,rhGAA在第七潜在N-糖基化位点处包含平均至少0.5mol唾液酸/mol rhGAA。在一些实施例中,rhGAA在第七潜在N-糖基化位点处包含平均至少0.8mol唾液酸/mol rhGAA。在一些实施例中,rhGAA在第七潜在N-糖基化位点处包含平均约0.86mol唾液酸/mol rhGAA。在一些实施例中,rhGAA在第七潜在N-糖基化位点处包含平均至少0.3mol的带有聚-LacNAc残基的聚糖种类/mol rhGAA。在一些实施例中,几乎一半的rhGAA在第七潜在N-糖基化位点处包含带有聚-LacNAc残基的聚糖。在至少一个实施例中,在第七潜在N-糖基化位点处鉴定的所有N-聚糖都是复合N-聚糖。在至少一个实施例中,rhGAA包含如图6A或图19A所示的第七潜在N-糖基化位点占据率和如图19H或图20B所示的N-糖基化谱。

[0202] 在一些实施例中,rhGAA包含平均3-4mol M6P残基/mol rhGAA和约4至约7.3mol唾液酸/mol rhGAA。在一些实施例中,rhGAA进一步在第一潜在N-糖基化位点处包含平均至少约0.5mol双-M6P/mol rhGAA,在第二潜在N-糖基化位点处包含平均约0.4至约0.6mol单-M6P/mol rhGAA,在第三潜在N-糖基化位点处包含约0.9至约1.2mol唾液酸/mol rhGAA,在第四潜在N-糖基化位点处包含约0.4至约0.6mol双-M6P/mol rhGAA,在第四潜在N-糖基化位点处包含约0.3至约0.4mol单-M6P/mol rhGAA,在第五潜在N-糖基化位点处包含约0.8至约0.9mol唾液酸/mol rhGAA,在第六潜在N-糖基化位点处包含约1.5至约4.2mol唾液酸/mol rhGAA。在一些实施例中,rhGAA在第七潜在N-糖基化位点处进一步包含平均至少0.5mol唾液酸/mol rhGAA。在一些实施例中,rhGAA在第七潜在N-糖基化位点处包含平均至少0.8mol唾液酸/mol rhGAA。在至少一个实施例中,rhGAA在第七潜在N-糖基化位点处进一步包含平均约0.86mol唾液酸/mol rhGAA。在至少一个实施例中,rhGAA包含七个潜在N-糖基化位点,其占据率和N-糖基化谱如图6A-6H所示。在至少一个实施例中,rhGAA包含七个潜在N-糖基化位点,其占据率和N-糖基化谱如图19A-19H和图20A-20B所示。

[0203] 制造rhGAA的方法公开于国际专利号PCT/2015/053252,美国专利号10,208,299号和美国专利号10,961,522,其全部披露通过引用并入本文。

[0204] 一旦在溶酶体内,rhGAA可以酶促降解积累的糖原。然而,常规rhGAA产品具有低总水平的带有单-M6P和双-M6P的N-聚糖,并且因此靶向肌细胞很差,导致rhGAA至溶酶体的较差递送。这些常规产品中的大多数rhGAA分子不具有磷酸化的N-聚糖,从而缺乏对CIMPR的亲和力。非磷酸化的高甘露糖N-聚糖还可以被甘露糖受体清除,该甘露糖受体导致ERT的非生产性清除(图2B)。相比之下,如图2A所示,本文所述的rhGAA可能含有更高量的带有单-M6P-和双-M6P的N-聚糖,导致rhGAA有效摄取到特定组织如肌肉中。

N-连接糖基化rhGAA的生产和纯化

[0205] 如国际专利申请号PCT/2015/053252、美国专利号10,208,299和美国专利号10,961,522(其全部内容通过引用并入本文)中所述,可以使用诸如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞等细胞来产生其中所述的rhGAA。在CHO细胞中表达高M6P rhGAA比翻译后修饰rhGAA的聚糖谱更有利,这至少部分是因为只有前者可以通过聚糖降解转化为具有最佳糖原水解的rhGAA形式,从而增强治疗功效。

[0206] 在一些实施例中,rhGAA优选由一种或多种CHO细胞系产生,这些CHO细胞系用编码本文所述的rhGAA的DNA构建体转化。此类CHO细胞系可以包含编码GAA的多核苷酸的基因的多个拷贝,如5、10、15或20或更多个拷贝。表达酸性α-葡糖苷酶的等位变体或其他变体酸性α-葡糖苷酶氨基酸序列(如与SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:6具有至少90%、95%、98%或99%一致性的那些)的DNA构建体可以在CHO细胞中构建并表达。本领域普通技术人员可以选择适合于转化CHO细胞用于产生此类DNA构建体的替代载体。

[0207] 于制备此类CHO细胞系的方法描述于国际专利号PCT/2015/053252,美国专利号10,208,299号和美国专利号10,961,522,其全部内容通过引用并入本文。简而言之,这些方法涉及用编码GAA或GAA变体的DNA转化CHO细胞,选择将编码GAA的DNA稳定整合到其染色体中并稳定表达GAA的CHO细胞,并且选择表达具有高含量的带有单-M6P或双-M6P的N-聚糖的GAA的CHO细胞,以及任选地选择一种CHO细胞,该CHO细胞具有含高唾液酸含量的N-聚糖,和/或具有含低非磷酸化的高甘露糖含量的N-聚糖。通过培养该CHO细胞系,并且从CHO细胞

培养物中回收所述的组合物,选定的CHO细胞系可以用于产生rhGAA和rhGAA组合物。在一些实施例中,由选定的CHO细胞系产生的rhGAA包含高含量的带有单-M6P或双-M6P的靶向CIMPR的N-聚糖。在一些实施例中,如本文所述产生的rhGAA具有低水平的具有末端半乳糖的复合N-聚糖。在一些实施例中,选定的CHO细胞系称为GA-ATB200或ATB200-X5-14。在一些实施例中,选定的CHO细胞系包括这样的CHO细胞培养物的传代培养物或衍生物。在一些实施例中,由选定的CHO细胞系产生的rhGAA称为ATB200。

[0208] 如本文所述产生的rhGAA可通过美国专利号10,227,577和美国临时申请号62/506,569(两者均通过引用以其整体并入本文)中所述的以下方法纯化。用于生产、捕获和纯化从CHO细胞系产生的rhGAA的示例性过程如图3所示。

[0209] 简而言之,生物反应器601包含细胞培养物,例如CHO细胞,其表达rhGAA并将rhGAA分泌到周围的液体培养基中。生物反应器601可以是用于培养细胞的任何合适的生物反应器,如灌注式、分批式、或补料分批式生物反应器。在对于细胞产生rhGAA而言足够的时间后,将培养基从生物反应器中取出。这样的培养基去除对于灌注生物反应器可以是连续的,或者对于分批或补料分批反应器可以是分批的。将该介质通过过滤系统603过滤以去除细胞。过滤系统603可以是任何合适的过滤系统,包括交替切向流过滤(ATF)系统、切向流过滤(TFF)系统和/或离心过滤系统等。在各种实施例中,该过滤系统利用具有孔径大小在约10纳米和约2微米之间的过滤器。

[0210] 过滤后,将该滤液加载到蛋白质捕获系统605上。蛋白质捕获系统605可以包括一个或多个色谱柱。如果使用多于一个色谱柱,那么这些色谱柱可以串联放置,这样使得下一个色谱柱可以在第一个色谱柱加载后立即开始加载。可替代地,该介质去除过程可以在这些色谱柱转换的期间被中止。

[0211] 在各种实施例中,蛋白质捕获系统605包括一个或多个阴离子交换(AEX)柱,用于直接捕获rhGAA的产物,特别是具有高M6P含量的rhGAA。蛋白质捕获系统605捕获的rhGAA通过改变柱中的pH和/或盐含量从一个或多个柱中洗脱。表2提供了AEX柱的示例性条件。

表2.AEX柱的示例性条件

程序	缓冲液	流速（cm/h）	体积（CV）	温度（°C）
用前消毒	0.1-10 M NaOH	≤25-2500	≥1-3（≥10-120 min）	15 - 25
预平衡	20-2000 mM 磷酸盐缓冲液（PB），pH 6.9-7.3	≤25-2500	≥1-5	15 - 25
平衡	4-400 mM PB，pH 6.9-7.3	≤25-2500	≥1-5	2 - 15
加载	NA	≤10-1000	NA	2 - 15
洗涤 1	4-400 mM PB，pH 6.9-7.3	≤25-2500	≥2-10	2 - 15
洗涤 2	4-400 mM PB，pH 6.9-7.3	≤25-2500	≥2-10	15 - 25
洗脱	4-400 mM PB，20-2000 mM NaCl，pH 6.1-6.5	≤25-2500	NA	15 - 25
脱去	4-400 mM PB，0.1-10 M NaCl，pH 6.1-6.5	≤25-2500	≥1-5	15 - 25
用后消毒	0.1-10 M NaOH	≤25-2500	≥1-3（≥10-120 min）	15 - 25
储存	0.01-1.0 M NaOH	≤25-2500	≥1-5	15 - 25

[0212] 可以使洗脱的rhGAA经受进一步的纯化步骤和/或质量保证步骤。例如,可以对洗脱的rhGAA进行病毒杀灭步骤607。此种病毒杀灭607可以包括低pH杀灭、洗涤剂杀灭、或本领域已知的其他技术中的一个或多个。来自病毒杀灭步骤607的rhGAA产物可被引入第二色谱系统609中以进一步纯化rhGAA产物。可替代地,可以将来自蛋白质捕获系统605的洗脱rhGAA直接进料至第二色谱系统609。在各种实施例中,该第二色谱系统609包括用于进一步去除杂质的一个或多个固定的金属亲和色谱(IMAC)柱。下表3中提供了IMAC柱的示例性条件。

表3.IMAC柱的示例性条件

程序	缓冲液	流速（cm/h）	体积（CV）
冲洗	4-400 mM PB, pH 6.3-6.7	≤25-2500	≥1-5
用前消毒	0.01-1.0 M NaOH	≤25-2500	≥1-3（10 - 30 min）
平衡	4-400 mM PB，pH 6.5	≤25-2500	≥1-5
用 WFI 洗涤	注射用水（WFI）	≤25-2500	≥1-3
螯合	0.01-1.0 M 乙酸铜	≤25-2500	≥1-5
用 WFI 洗涤	WFI	≤25-2500	≥2-10
用酸性缓冲液洗涤	2-200 mM 乙酸钠、0.05-5 M NaCl、pH 3.5-4.5	≤25-2500	≥2-10
平衡	4-400 mM PB, pH 6.3-6.7	≤25-2500	≥1-5
用洗脱缓冲液运行空白	4-400 mM PB, 15-1500 mM 甘氨酸，pH 6.1-6.5	≤25-2500	≥2-20
平衡	4-400 mM PB, pH 6.3-6.7	≤25-2500	≥1-5
加载	NA	≤25-2500	≥1-5
洗涤 1	4-400 mM PB, pH 6.3-6.7	≤25-2500	≥2-10
洗涤 2	4-400 mM PB，0.1-10 M NaCl，5%-30%丙二醇，pH 6.3-6.7	≤25-2500	≥2-10
洗涤 3	4-400 mM PB, pH 6.3-6.7	≤25-2500	≥2-10
洗脱	4-400 mM PB, 15-1500 mM 甘氨酸，pH 6.1-6.5	≤25-2500	NA
脱去	4-400 mM PB，50-5000 mM 咪唑，pH 6.3-6.7	≤25-2500	≥1-5
用后消毒	0.01-1 M NaOH	≤25-2500	≥1-3（10 - 30 min）
冲洗	4-400 mM PB, pH 6.3-6.7	≤25-2500	≥1-5
储存	5%-30%乙醇	≤25-2500	≥1-5

[0213] 将该rhGAA加载到第二色谱系统609上后，将该重组蛋白从一个或多个柱上进行洗脱。可以对洗脱的rhGAA进行病毒杀灭步骤611。如同病毒杀灭607一样，病毒杀灭611可以包括低pH杀灭、洗涤剂杀灭、或本领域已知的其他技术中的一个或多个。在一些实施例中，仅使用病毒杀灭607或611中的一个，或在纯化过程的相同阶段进行病毒杀灭。

[0214] 来自病毒杀灭步骤611的rhGAA产物可被引入第三色谱系统613中以进一步纯化重

组蛋白产物。可替代地,可以将来自第二色谱系统609的经洗脱的重组蛋白直接补料至第三色谱系统613中。在各种实施例中,第三色谱系统613包括用于进一步去除杂质的一个或多个阳离子交换色谱(CEX)柱和/或尺寸排阻色谱(SEC)柱。然后将rhGAA产物从第三色谱系统613洗脱。下表4中提供了CEX柱的示例性条件。

表4.CEX柱的示例性条件

程序	缓冲液	流速 (cm/h)	体积 (CV)
用前消毒	0.1-10 M NaOH	≤25-2500	≥1-3 (≥10-120 min)
平衡	2-200 mM 柠檬酸钠，pH 4.0-5.0	≤30-3000	≥2-10
加载	NA	≤30-3000	NA
洗涤	2-200 mM 柠檬酸钠，pH 4.0-5.0	≤30-3000	≥2-10
洗脱	2-200 mM 柠檬酸钠，15-1500 mM NaCl，pH 4.0-5.0	≤30-3000	≥2-10
脱去	2-200 mM 柠檬酸钠，0.1-10 M NaCl，pH 4.0-5.0	≤30-3000	≥1-5
用后消毒	0.1-10 M NaOH	≤25-2500	≥1-3 (≥10-120 min)
储存	0.01-1.0 M NaOH	≤30-3000	≥1-5

[0215] 也可以使rhGAA产物经受进一步加工。例如,可以使用另一个过滤系统615去除病毒。在一些实施例中,此种过滤可以利用具有孔径在5和50μm之间的过滤器。其他产物处理可以包括产物调节步骤617,其中该重组蛋白产物可以被灭菌、过滤、浓缩、储存和/或具有用于终产物配制品而添加的另外的组分。

药物组合物

[0216] 在各种实施例中,提供了包含本文所述的rhGAA(单独或与其他治疗剂组合)和/或药学上可接受的载剂的药物组合物。

[0217] 在一个或多个实施例中,本文所述的药物组合物包含药学上可接受的盐。

[0218] 在一些实施例中,本文使用的药学上可接受的盐是药学上可接受的酸加成盐。药学上可接受的酸加成盐包括但不限于盐酸、氢溴酸、硫酸、氨基磺酸、硝酸、磷酸等,以及有机酸,包括但不限于乙酸、三氟乙酸、己二酸、抗坏血酸、天冬氨酸、苯磺酸、苯甲酸、丁酸、樟脑酸、樟脑磺酸、肉桂酸、柠檬酸、二葡萄糖酸、乙磺酸、谷氨酸、乙醇酸、甘油磷酸、半硫酸、己酸、甲酸、富马酸、2-羟乙基磺酸(羟基乙磺酸)、乳酸、羟基马来酸、苹果酸、丙二酸、苯乙醇酸、均三甲苯磺酸、甲磺酸、萘磺酸、烟酸、2-萘磺酸、草酸、扑酸、果胶酯酸、苯乙酸、3-苯丙酸、特戊酸、丙酸、丙酮酸、水杨酸、硬脂酸、琥珀酸、磺胺酸、酒石酸、对甲苯磺酸、十一烷酸等。

[0219] 在一些实施例中,本文使用的药学上可接受的盐是药学上可接受的碱加成盐。药

学上可接受的碱加成盐可包括但不限于氨或铵或金属阳离子如钠、钾、锂、钙、镁、铁、锌、铜、锰、铝等的氢氧化物、碳酸盐或碳酸氢盐。来源于药学上可接受的有机无毒碱的盐包括但不限于以下各项的盐:伯、仲和叔胺,季胺化合物,经取代胺包括天然存在的经取代胺,环胺和碱性离子交换树脂,如甲胺、二甲胺、三甲胺、乙胺、二乙胺、三乙胺、异丙胺、三丙胺、三丁胺、乙醇胺、二乙醇胺、2-二甲氨基乙醇、2-二乙氨基乙醇、二环已基胺、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、咖啡因、海巴明、胆碱、甜菜碱、乙二胺、葡糖胺、甲葡糖胺、可可碱、嘌呤、哌嗪、哌啶、N-乙基哌啶、四甲基铵化合物、四乙铵化合物、吡啶、N,N-二甲基苯胺、N-甲基哌啶、N-甲基吗啉、二环已胺、二苄胺、N,N-二苄基苯乙胺、1-二苯羟甲胺、N,N'-二苄基乙二胺、聚胺树脂等。

[0220] 在一些实施例中,rhGAA或其药学上可接受的盐可以配制成适于静脉内施用的药物组合物。在一些实施例中,药物组合物是无菌等渗水性缓冲液中的溶液。必要时,所述组合物还可以包括增溶剂和局部麻醉剂以缓解注射部位的疼痛。药物组合物的成分可以以单位剂量形式分开或混合在一起提供,例如,作为在气密容器中的干燥冻干粉或无水浓缩物,气密容器如指明活性剂的量的安瓿或小药囊。在通过输注施用组合物时,可以用包含无菌药用级的水、盐水或右旋糖/水的输液瓶进行分配。在一些实施例中,输注可发生在医院或诊所。在一些实施例中,输注可以发生在医院或诊所环境之外,例如,在受试者的住处。在通过注射施用组合物时,可以提供无菌注射用水或盐水的安瓿,这样使得可以在施用前将这些成分混合。

[0221] 在一些实施例中,rhGAA或其药学上可接受的盐每2周作为持续约4小时的IV输注施用。在一些实施例中,输注总体积由患者的体重决定。如果患者经历IAR,可以降低输注速率并增加输注持续时间。

[0222] 在一些实施例中,初始输注速率是1mg/kg/小时。在一些实施例中,如果没有输注相关反应(IAR)的迹象,输注速率每30分钟以2mg/kg/小时逐渐增加,直到达到7mg/kg/小时的最大速率;然后,输注速率维持在7mg/kg/小时直到输注完成。在一些实施例中,大约总输注持续时间为4小时。

[0223] 应使用输注泵以逐步方式进行输注。基于患者体重,输注速率可以从每30分钟+/-5分钟的初始速率增加,直到达到最大速率,如下表5所示。

表5:20mg/kg剂量的推荐输注体积和速率

受试者体重范围（kg）	总输注体积（mL）	步骤 1 1 mg/kg/hr (mL/hr)	步骤 2 3 mg/kg/hr (mL/hr)	步骤 3 5 mg/kg/hr (mL/hr)	步骤 4 7 mg/kg/hr (mL/hr)
40 - 50	250	13	38	63	88
50.1 - 60	300	15	45	75	105
60.1 - 100	500	25	75	125	175
100.1 - 120	600	30	90	150	210
120.1 - 140	700	35	105	175	245
140.1 - 160	800	40	120	200	280
160.1 - 180	900	45	135	225	315
180.1 - 200	1,000	50	150	250	350

[0224] rhGAA或其药学上可接受的盐最严重的耐受性问题是输注相关反应(IAR)的发生，在某些情况下可能包括危及生命的过敏反应或其他严重的过敏反应。在一些实施例中，在施用rhGAA或其药学上可接受的盐之前，施用抗组胺剂、解热剂和/或皮质类固醇的预处理。如果预处理与先前的酶替代疗法(ERT)一起使用，则在施用rhGAA或其药学上可接受的盐之前，施用抗组胺剂、解热剂和/或皮质类固醇的预处理。

[0225] 在一些实施例中，rhGAA或其药学上可接受的盐可以配制用于口服施用。可口服施用的组合物可以配制成片剂、胶囊剂、珠粒剂(ovule)、酏剂、溶液或混悬剂、凝胶剂、糖浆剂、漱口剂，或在使用前用水或其他合适的媒剂重构的干粉，可任选地含有用于速释、延迟释放、改性释放、持续释放、脉冲释放或控释应用的调味剂和着色剂。还可以使用固体组合物，如片剂、胶囊、锭剂、软锭剂、丸剂、大丸剂、粉剂、糊剂、颗粒剂、子弹剂、糖衣丸或预混制剂。可以根据本领域已知的方法来制备用于口服使用的固体和液体组合物。这样的组合物还可以包含一种或多种药学上可接受的，可以是固体或液体形式的载剂和赋形剂。片剂或胶囊可以通过常规手段与药学上可接受的赋形剂(包括但不限于粘合剂、填充剂、润滑剂、崩解剂或润湿剂)一起来制备。适合的药学上可接受的赋形剂是本领域已知的，并且包括但不限于：预胶化淀粉、聚乙烯吡咯烷酮、聚维酮、羟丙基甲基纤维素(HPMC)、羟丙基乙基纤维素(HPEC)、羟丙基纤维素(HPC)、蔗糖、明胶、阿拉伯树胶、乳糖、微晶纤维素、磷酸氢钙、硬脂酸镁、硬脂酸、山嵛酸甘油酯、滑石、硅石、玉米、马铃薯或木薯淀粉、淀粉乙醇酸钠、十二烷基硫酸钠、柠檬酸钠、碳酸钙、二碱式磷酸钙、甘氨酸交联羧甲基纤维素钠，以及复合硅酸盐。可以将片剂通过本领域熟知的方法进行包被。

[0226] 在一些实施例中，本文所述的药物组合物可根据美国专利号10,512,676和美国临时申请号62/506,574(均通过引用以其整体并入本文)进行配制。例如，在一些实施例中，本文所述的药物组合物的pH为约5.0至约7.0或约5.0至约6.0。在一些实施例中，pH在约5.5至约6.0的范围内。在一些实施例中，药物组合物的pH为6.0。在一些实施例中，可以通过使用pH调节剂(例如，碱化剂和酸化剂)，如，氢氧化钠和/或盐酸，将pH调节至目标pH。

[0227] 本文所述的药物组合物可包含缓冲液系统，例如柠檬酸盐系统、磷酸盐系统和/或其组合。该柠檬酸盐和/或磷酸盐可以是柠檬酸钠或磷酸钠。其他盐包括钾和铵盐。在一个或多个实施例中，该缓冲液包括柠檬酸盐。在另外的实施例中，缓冲液包括柠檬酸钠(例如，

脱水柠檬酸钠和柠檬酸一水合物的混合物)。在一个或多个实施例中,包括柠檬酸盐的缓冲溶液可以包括柠檬酸钠和柠檬酸。在一些实施例中,柠檬酸盐和磷酸盐缓冲液二者均存在。

[0228] 在一些实施例中,本文所述的药物组合物包含至少一种赋形剂。赋形剂可以起到张度剂、膨胀剂和/或稳定剂的作用。张度剂是帮助保证该配制品具有与人血相似或相同的渗透压的组分。膨胀剂是增加这些配制品(例如,冻干的)的质量,并且为该块状物提供足够结构的成分。稳定剂是可以防止或最小化在疏水的空气-水的界面表面的聚集体形成的化合物。一种赋形剂可以同时充当张度剂和膨胀剂。例如,甘露醇可以作为张度剂发挥作用,也可以提供作为膨胀剂的益处。

[0229] 张度剂的实例包括氯化钠、甘露醇、蔗糖和海藻糖。在一些实施例中,张度剂包含甘露醇。在一些实施例中,一种或多种张度剂的总量范围为约10mg/mL至约50mg/mL的量。在进一步的实施例中,一种或多种张度剂的总量范围为约10、11、12、13、14或15mg/mL至约16、20、25、30、35、40、45或50mg/mL的量。

[0230] 在一些实施例中,赋形剂包含稳定剂。在一些实施例中,稳定剂是表面活性剂。在一些实施例中,稳定剂是聚山梨酯80。在一个或多个实施例中,稳定剂的总量在约0.1mg/mL至约1.0mg/mL的范围内。在进一步的实施例中,稳定剂的总量在约0.1、0.2、0.3、0.4或0.5mg/mL至约0.5、0.6、0.7、0.8、0.9或1.0mg/mL的范围内。在更进一步的实施例中,稳定剂的总量为约0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9或1.0mg/mL。

[0231] 在一些实施例中,药物组合物包含一种或多种以下赋形剂:柠檬酸钠二水合物、柠檬酸一水合物、甘露醇或聚山梨酯80。

[0232] 在一些实施例中,药物组合物包含(a)rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α),(b)至少一种选自由柠檬酸盐、磷酸盐及其组合组成的组的缓冲液,和(c)至少一种选自由甘露醇、聚山梨酯80及其组合组成的组的赋形剂,并且具有(i)约5.0至约6.0,或(ii)约5.0至约7.0的pH。在一些实施例中,组合物进一步包含水。在一些实施例中,组合物可进一步包含酸化剂和/或碱化剂。

[0233] 在一些实施例中,药物组合物包含(a)浓度为约5-50mg/mL、约5-30mg/mL或约15mg/mL的rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α),(b)浓度为约10-100mM或约25mM的柠檬酸钠缓冲液,(c)浓度为约10-50mg/mL或约20mg/mL的甘露醇,(d)浓度为约0.1-1mg/mL、约0.2-0.5mg/mL或约0.5mg/mL的聚山梨酯80,annaïvee)水,并且具有约6.0的pH。在至少一个实施例中,药物组合物包含(a)15mg/mL rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)(b)25mM柠檬酸钠缓冲液,(c)20mg/mL甘露醇(d)0.5mg/mL聚山梨酯80,天然的(e)水,并且具有约6.0的pH。在一些实施例中,组合物可进一步包含酸化剂和/或碱化剂。

[0234] 在一些实施例中,包含rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)的药物组合物在施用于有需要的受试者之前被稀释。

[0235] 在一些实施例中,本文所述的药物组合物可经历冻干(冷冻干燥)过程以提供饼或粉。因此,在一些实施例中,本文所述的药物组合物属于冻干后的rhGAA组合物。冻干混合物可包含本文所述的rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)、缓冲液(选自下由柠檬酸盐、磷酸盐、及其组合组成的组),和至少一种赋形剂(选自由海藻糖、甘露醇、聚山梨酯80、及其组合组成的组)。在一些实施例中,可以向该冻干的混合物中添加其他成分(例如,其他赋形剂)。包括该冻干配制品的药物组合物能以小瓶提供,然后可以将该药物组合物储存、转运、

重构和/或施用给患者。

[0236] 在一些实施例中,包含如本文所述的rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)的药物组合物是玻璃小瓶中的冻干粉末。在一些实施例中,每个小瓶可包含约105mg冻干的rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)。粉末可以在无菌水中重构,然后在IV输注施用前用0.9%氯化钠稀释。在一些实施例中,重构后,获得的浓缩物含有15mg rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)/mL。在一些实施例中,在用7.2mL稀释剂重构后,小瓶含有可用体积为7.0mL的浓缩物,其中含有15mg/mL rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)。在一些实施例中,稀释剂是无菌水和/或0.9%氯化钠。在一些实施例中,每个小瓶可包括满溢以弥补制备期间的液体损失。在一些实施例中,本披露提供含有105mg冻干rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)组合物的小瓶(例如,玻璃小瓶),该组合物包含rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)、柠檬酸钠二水合物、柠檬酸一水合物,甘露醇、聚山梨酯80,其中各成分的量/浓度可选自本文所述的那些。

[0237] 在一些实施例中,待重构的小瓶的数量基于患者的体重和每个小瓶含有105mg rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)的事实。因此,在一些实施例中,患者剂量(mg)=受试者体重(kg)x剂量(mg/kg);并且所需的小瓶数量=患者剂量(以mg为单位)/105(mg/小瓶)。在一些实施例中,如果小瓶的数量包括分数,则四舍五入到下一个整数。

[0238] 例如,在65kg的患者中,剂量为20mg/kg:患者剂量(mg)=65kg X20mg/kg=1300mg总剂量;所需的小瓶数=1300/105mg/小瓶=12.381四舍五入至13个小瓶以用于分配目的。患者剂量为20mg/kg,因此将提取前12个小瓶的全部体积,但第13个小瓶将提取2.7ml并添加到输注袋中。

[0239] 在一些实施例中,重构方法包括或基本上由以下过程组成:(1)通过将7.2mL无菌注射用水缓慢注入每个小瓶的内壁而不是直接注入冻干饼来重构每个小瓶;(2)轻轻滚动每个小瓶,不要颠倒、旋转或摇动;(3)将一定量的重构rhGAA(基于患者体重)在0.9%的注射用氯化钠中稀释,并在重构后立即稀释到针对20mg/kg剂量的总输注体积(基于患者体重);(4)添加重构rhGAA前,除去空气并且总量等于注射袋用0.9%氯化钠的重构体积;(5)慢慢地从每个小瓶中取出重新配制的溶液,避免注射器中起泡沫;(6)将重构的西帕葡糖苷酶α溶液直接缓慢地加入到0.9%注射用氯化钠袋中(不要直接加入到输液袋内可能残留的空域中),从而避免输液袋中起泡(可替代地,可以使用适当大小的空输液袋,根据患者体重加入所需体积的0.9%注射用氯化钠和重构的rhGAA来完成产品稀释。建议使用预先填充的0.9%注射用氯化钠袋);(7)将输注袋轻轻倒置或按摩进行混合;以及(8)盖好输注袋和输注管,避免药物受到光照。重构后,每个小瓶将产生15mg/mL的浓度。每瓶可提取的总剂量为105mg/7mL。

[0240] 在一些实施例中,仅稀释基于患者体重的精确量的重构rhGAA。在一些实施例中,对于重构小瓶的部分取出,数量四舍五入到小数点后1位。在一些实施例中,不振荡混合输注袋或使用气动管来运输输注袋。在一些实施例中,经重构和稀释的溶液可包含在初始制备后呈细白色股线或半透明纤维形式的颗粒并且随时间增加。

[0241] 本披露还提供了包含酶稳定剂的药物组合物。在一些实施例中,酶稳定剂是麦格司他或其药学上可接受的盐。在另一个实施例中,酶稳定剂是脱氧野尻霉素或其药学上可接受的盐。

[0242] 在一些实施例中,本文所述的rhGAA配制在一种药物组合物中,而酶稳定剂如麦格司他配制在另一种药物组合物中。在一些实施例中,包含麦格司他的药物组合物基于可作为ZAVESCA®(阿克特利昂制药公司(Actelion Pharmaceuticals))商购的配制品。在一些实施例中,包含麦格司他的药物组合物包含微晶纤维素、预胶化淀粉、Emprove®三氯蔗糖粉末、硬脂酸镁和/或胶体二氧化硅。在一些实施例中,药物组合物是用于口服施用的硬明胶胶囊,其包含约65mg的麦格司他、微晶纤维素、预胶化淀粉、Emprove®三氯蔗糖粉末、硬脂酸镁和/或胶体二氧化硅。

[0243] 在一些实施例中,包含麦格司他的药物组合物包含按重量计20%-40%的麦格司他,例如按重量计30-35%的麦格司他。在一些实施例中,包含麦格司他的药物组合物进一步包含按重量计40%-60%的微晶纤维素,例如按重量计45-55%的微晶纤维素。在一些实施例中,包含麦格司他的药物组合物进一步包含按重量计5%-25%的预胶化淀粉,例如按重量计10-20%的预胶化淀粉。在一些实施例中,包含麦格司他的药物组合物进一步包含按重量计0.1%-5%的三氯蔗糖,例如按重量计0.2-1%的三氯蔗糖。在一些实施例中,包含麦格司他的药物组合物进一步包含按重量计0.1%-5%的硬脂酸镁,例如按重量计0.2-1%的硬脂酸镁。在一些实施例中,包含麦格司他的药物组合物进一步包含按重量计0.1%-5%的胶体二氧化硅,例如按重量计0.2-1%的胶体二氧化硅。在一些实施例中,包含麦格司他的药物组合物在用于口服施用的硬明胶胶囊中提供。在一些实施例中,药物组合物是用于口服施用的硬明胶胶囊,其包含按重量计约20%-40%(例如,30-35%)的麦格司他、按重量计40%-60%(例如,45-55%)的微晶纤维素、按重量计5%-25%(例如,10-20%)的预胶化淀粉、按重量计0.1%-5%(例如,0.2%-1%)的三氯蔗糖、按重量计0.1%-5%(例如,0.2%-1%)的硬脂酸镁和/或按重量计0.1%-5%(例如,0.2%-1%)的胶体二氧化硅。在一些实施例中,包含麦格司他的药物组合物以口服液体剂型提供,例如口服溶液剂、分散剂或混悬剂。在一些实施例中,药物组合物是口服液体剂型,其包含按重量计约20%-40%(例如,30-35%)的麦格司他、按重量计40%-60%(例如,45-55%)的微晶纤维素、按重量计5%-25%(例如,10-20%)的预胶化淀粉、按重量计0.1%-5%(例如,0.2%-1%)的三氯蔗糖、按重量计0.1%-5%(例如,0.2%-1%)的硬脂酸镁和/或按重量计0.1%-5%(例如,0.2%-1%)的胶体二氧化硅。

[0244] 在一些实施例中,包含麦格司他的药物组合物包含约50至约100mg麦格司他,例如约65mg麦格司他。在一些实施例中,包含麦格司他的药物组合物包含约50至约150mg微晶纤维素,例如约75至约125mg微晶纤维素。在一些实施例中,包含麦格司他的药物组合物包含约20至约50mg预胶化淀粉,例如约30至约40mg预胶化淀粉。在一些实施例中,包含麦格司他的药物组合物包含约0.1至约5mg三氯蔗糖,例如约0.5至约2mg三氯蔗糖。在一些实施例中,包含麦格司他的药物组合物包含约0.1至约5mg硬脂酸镁,例如约0.5至约2mg硬脂酸镁。在一些实施例中,包含麦格司他的药物组合物包含约0.1至约5mg胶体二氧化硅,例如约0.2mg至约1mg胶体二氧化硅。在一些实施例中,包含麦格司他的药物组合物在用于口服施用的硬明胶胶囊中提供。在一些实施例中,药物组合物是用于口服施用的硬明胶胶囊,其包含约50至约100mg(例如,65mg)的麦格司他、约50至约150mg(例如,75mg至约125mg)的微晶纤维素,约20至约50mg(例如,30mg至约40mg)的预胶化淀粉,约0.1至约5mg(例如,0.5mg至约2mg)的三氯蔗糖,约0.1至约5mg(例如,0.5mg)至约2mg的硬脂酸镁,和/或约0.1至约5mg(例如,

0.5mg至约2mg)的胶体二氧化硅。在一些实施例中,包含麦格司他的药物组合物以口服液体剂型提供,例如口服溶液剂、分散剂或混悬剂。在一些实施例中,药物组合物是口服液体剂型,其包含约50至约100mg(例如,65mg)的麦格司他、约50至约150mg(例如,75mg至约125mg)的微晶纤维素,约20至约50mg(例如,30mg至约40mg)的预胶化淀粉,约0.1至约5mg(例如,0.5mg至约2mg)的三氯蔗糖,约0.1至约5mg(例如,0.5mg)至约2mg的硬脂酸镁,和/或约0.1至约5mg(例如,0.5mg至约2mg)的胶体二氧化硅。

[0245] 在一些实施例中,包含麦格司他的药物组合物以用于口服施用的硬明胶胶囊提供,其包含约65mg麦格司他、约100mg微晶纤维素、约32.6mg预胶化淀粉、约1mg三氯蔗糖粉末、约1mg硬脂酸镁,和约0.4mg胶体二氧化硅。

[0246] 在一些实施例中,包含麦格司他的药物组合物以口服溶液剂、分散剂或混悬剂提供,其包含约65mg麦格司他、约100mg微晶纤维素、约32.6mg预胶化淀粉、约1mg三氯蔗糖粉末、约1mg硬脂酸镁,和约0.4mg胶体二氧化硅。

[0247] 在一些实施例中,包含麦格司他的药物组合物以口服溶液剂、分散剂或混悬剂提供,其包含约130mg麦格司他、约200mg微晶纤维素、约65.2mg预胶化淀粉、约2mg三氯蔗糖粉末、约2mg硬脂酸镁,和约0.8mg胶体二氧化硅。

[0248] 在一些实施例中,包含麦格司他的药物组合物以口服溶液剂、分散剂或混悬剂提供,其包含约195mg麦格司他、约300mg微晶纤维素、约97.8mg预胶化淀粉、约3mg三氯蔗糖粉末、约3mg硬脂酸镁,和约1.2mg胶体二氧化硅。

[0249] 在一些实施例中,包含麦格司他的药物组合物以口服溶液剂、分散剂或混悬剂提供,其包含约260mg麦格司他、约400mg微晶纤维素、约130.4mg预胶化淀粉、约4mg三氯蔗糖粉末、约4mg硬脂酸镁,和约1.6mg胶体二氧化硅。

治疗方法

A、疾病的治疗

[0250] 本披露的另一个方面涉及通过施用本文所述的rhGAA或药物组合物来治疗与糖原贮积失调相关的疾病或障碍的方法。在一些实施例中,疾病是庞贝病(也称为酸性麦芽糖酶缺乏症(AMD)和糖原贮积症II型(GSD II))。在一些实施例中,rhGAA是ATB200或西帕葡糖苷酶α。在一些实施例中,药物组合物包含rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)。本文还提供了rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)治疗庞贝病的用途。

[0251] 在一些实施例中,通过本文披露的方法治疗的受试者是经历过ERT的患者。例如,通过本文披露的方法治疗的受试者是确诊为迟发性庞贝病(酸性α-葡糖苷酶(GAA)缺乏症)的18岁或以上的成年患者,他们之前接受过酶替代疗法(ERT)。在一些实施例中,经历过ERT的患者目前正在接受批准的ERT(例如,MYOZYME® 或LUMIZYME®)。在一些实施例中,经历过ERT的患者正在接受他们目前的治疗。在一些实施例中,本文披露的方法在最后一次ERT剂量后约2周开始。在一些实施例中,通过本文披露的方法治疗的受试者是ERT初治患者。

[0252] 在一些实施例中,可期望患者每3个月再次看诊以确保提供给患者的临床益处并因此继续治疗。这种就诊频率可能是需要的,直到在医药产品上市之前。在一些实施例中,基于对疾病的主要临床和实验室参数的评估定期评估患者对治疗的应答。在一些实施例中,每两周施用本文所述的rhGAA(例如西帕葡糖苷酶α)和麦格司他。在一些实施例中,

rhGAA例如西帕葡糖苷酶α的剂量为约20mg/kg体重,作为4小时输注给予。在一些实施例中,如果输注延迟,则不应在口服给予麦格司他后超过3小时开始输注。在一些实施例中,对于体重50kg或以上的患者,四个65mg胶囊(总共260mg)。

[0253] 在上述一些实施例中,对于体重在40kg和50kg之间的患者,施用三个65mg胶囊(总共195mg)的剂量。在上述一些实施例中,rhGAA(例如西帕葡糖苷酶α)每两周通过输注施用。

[0254] 本文所述的rhGAA或药物组合物通过合适的途径施用。在一个实施例中,rhGAA或药物组合物静脉内施用。在一些实施例中,rhGAA或药物组合物使用输注泵静脉内施用。在一些实施例中,当静脉内施用时,输注袋和输注管被覆盖以避光。在其他实施例中,通过直接施用至靶组织(如至心脏或骨骼肌(例如,肌内))或神经系统(例如,直接注射到脑中;脑室内;鞘内)来施用rhGAA或药物组合物。在一些实施例中,rhGAA或药物组合物口服施用。如果需要,可以同时使用多于一种途径。

[0255] 在一些实施例中,本文所述的rhGAA或药物组合物的治疗效果可基于以下一项或多项标准进行评估:(1)心脏状况(例如,舒张末期和/或收缩末期容积的增加,或者通常在GSD-II中发现的进行性心肌病的减少、改善或预防),(2)肺功能的改进(例如,超过基线能力的啼哭肺活量的增加,和/或在啼哭期间氧脱饱和的正常化),(3)神经发育和/或运动技能/功能(例如,AIMS评分的增加),(4)受疾病影响的个体的组织中的糖原水平的降低,(5)肌肉力量;和/或(6)生活质量。

[0256] 在一些实施例中,本文所述的rhGAA或药物组合物的治疗效果可以通过运动功能、肌肉力量、肺功能、患者报告的结果(PRO)和生物标志物的测量来评估。在一些实施例中,本文所述的rhGAA或药物组合物的治疗效果可以通过6分钟步行测试(6MWT)、预测的6MWD%、10米步行测试(10MWT)、GSGC、爬4级楼梯、高尔斯(Gowers')、椅子测试和计时起立行走(TUG)来测量。用本文所述的rhGAA或药物组合物治疗还可导致肺功能测试(PFT)的改善,如通过FVC(例如,坐姿、仰卧)、慢肺活量(SVC)、最大吸气压力(MIP)、最大呼气压力(MEP)和嗅鼻吸气压力(SNIP)所测量的,以及能行走和不能行走受试者的所有测试身体部位的肌肉力量的改善,如通过MMT(例如,下肢MMT、上肢MMT、总体MMT)和定量肌肉测试(QMT)所测量的。

[0257] 在一些实施例中,与用媒剂治疗的受试者的心脏状态或治疗前受试者的心脏状态相比,在施用一剂或多剂本文所述的rhGAA或药物组合物后,受试者的心脏状态改善了10%、20%、30%、40%或50%(或之间的任何百分比)。受试者的心脏状态可以通过测量舒张末期和/或收缩末期容积和/或通过临床评估心肌病来评估。在一些实施例中,与用媒剂治疗的受试者的肺功能或治疗前受试者的肺功能相比,在施用一剂或多剂rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)或包含rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)的药物组合物后,受试者的肺功能改善了10%、20%、30%、40%或50%(或之间的任何百分比)。在某些实施例中,改善是在施用1周、2周、3周、1个月、2个月或更长时间后(或两者之间的任何时间段)实现的。在某些实施例中,rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)或包含rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)的药物组合物在施用后1周、2周、3周、1个月、2个月或更长时间(或其间的任何时间段)改善和/或稳定受试者的肺功能。

[0258] 在一些实施例中,与用媒剂治疗的受试者的肺功能或治疗前受试者的肺功能相比,在施用一剂或多剂本文所述的rhGAA或药物组合物后,受试者的肺功能改善了10%、20%、30%、40%或50%(或之间的任何百分比)。受试者的肺功能可以通过哭泣肺活量超过

基线肺活量和/或哭泣期间氧饱和度的归一化来评估。在一些实施例中,与用媒剂治疗的受试者的肺功能或治疗前受试者的肺功能相比,在施用一剂或多剂rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)或包含rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)的药物组合物后,受试者的肺功能改善了10%、20%、30%、40%或50%(或之间的任何百分比)。在某些实施例中,改善是在施用1周、2周、3周、1个月、2个月或更长时间后(或两者之间的任何时间段)实现的。在某些实施例中,rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)或包含rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)的药物组合物在施用后1周、2周、3周、1个月、2个月或更长时间(或其间的任何时间段)改善受试者的肺功能。

[0259] 在一些实施例中,与用媒剂治疗的受试者的神经发育和/或运动技能或治疗前受试者的神经发育和/或运动技能相比,在施用一剂或多剂rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)或本文所述的rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)的药物组合物后,受试者的神经发育和/或运动技能改善了10%、20%、30%、40%或50%(或之间的任何百分比)。受试者的神经发育和/或运动技能可以通过确定AIMS得分来评估。AIMS是由临床医师执行和评分的12项锚定量表(参见Rush JA Jr.,Handbook of Psychiatric Measures[神经病学量表手册],美国精神病学协会(American Psychiatric Association),2000,166-168)。项目1-10按5分锚定量表进行评分。项目1-4评估口面部运动。项目5-7涉及肢体和躯干运动障碍。项目8-10涉及检查者判断的总体严重程度,以及患者对运动的意识和与之相关的痛苦。项目11-12是关于牙齿和/或假牙问题的是/否问题(此类问题可能导致误诊为运动障碍)。在一些实施例中,与用媒剂治疗的受试者的神经发育和/或运动技能或治疗前受试者的神经发育和/或运动技能相比,在施用一剂或多剂rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)或包含rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)的药物组合物后,受试者的神经发育和/或运动技能改善了10%、20%、30%、40%或50%(或之间的任何百分比)。在某些实施例中,改善是在施用1周、2周、3周、1个月、2个月或更长时间后(或两者之间的任何时间段)实现的。在某些实施例中,rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)或包含rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)的药物组合物在施用后1周、2周、3周、1个月、2个月或更长时间(或其间的任何时间段)改善和/或稳定受试者的神经发育和/或运动技能。

[0260] 在一些实施例中,与用媒剂治疗的受试者的某个组织的糖原水平或治疗前受试者的某个组织的糖原水平相比,在施用一剂或多剂本文所述的rhGAA或药物组合物后,受试者的某个组织的糖原水平降低了10%、20%、30%、40%或50%(或之间的任何百分比)。在一些实施例中,组织是肌肉,例如股四头肌、三头肌和腓肠肌。可以使用本领域已知的方法分析组织的糖原水平。众所周知,糖原水平的测定基于淀粉葡糖苷酶消化,并在以下出版物中有所描述:Amalfitano等人(1999),Proc Natl Acad Sci USA[美国国家科学院院刊],96:8861-8866。在一些实施例中,与用媒剂治疗的受试者的肌肉中的糖原水平或治疗前受试者的肌肉中的糖原水平相比,在施用一剂或多剂rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)或包含rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)的药物组合物后,受试者的肌肉中的糖原水平降低了10%、20%、30%、40%或50%(或之间的任何百分比)。在某些实施例中,降低是在施用1周、2周、3周、1个月、2个月或更长时间后(或两者之间的任何时间段)实现的。在某些实施例中,rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)或包含rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)的药物组合物在施用后1周、2周、3周、1个月、2个月或更长时间(或其间的任何时间段)降低

受试者肌肉中的糖原水平。

[0261] 在一些实施例中,本申请的药物组合物的治疗效果,例如本文所述的那些,是持久的并且在治疗的12、24、36、48或>48个月内保持。在一些实施例中,本申请的药物组合物的治疗效果持续至或贯穿治疗的24个月、36个月或48个月,所述治疗效果包括诸如改善运动功能(例如,如通过6MWD、GSGC、10m步行、爬4级楼梯、高尔斯、椅子测试、TUG所测量的)、肺功能或呼吸功能,或改善或稳定PFT(例如,如通过预测FVC%(坐姿和仰卧)、SVC、MIP、MEP和SNIP所测量的)、生物标志物水平(例如,血清CK和尿液Hex4)、稳定或改善所有测试身体部位的肌肉力量(例如,如通过MMT(下肢、上肢、总体)、QMT所测量的)和/或患者报告的结果(PRO,包括PROMIS-身体功能简表[SF]20a和PROMIS-疲劳SF 8a)。

[0262] 在一些实施例中,用本申请的药物组合物治疗的患者比用常规rhGAA产品(例如,MYOZYME®、LUMIZYME®或NEXVIAZYME®)治疗的患者在以下方面获得更大(例如,更大的有临床意义)的改善:运动功能(例如,如通过6MWD、GSGC、10m步行、爬4级楼梯、高尔斯、椅子测试、TUG所测量的)、肺功能或呼吸功能、或改善或稳定的PFT(例如,如通过预测FVC%(坐姿和仰卧)、SVC、MIP、MEP和SNIP所测量的)、生物标志物水平(例如,血清CK和尿液Hex4)、稳定或改善的所有测试身体部位的肌肉力量(例如,如通过MMT(下肢、上肢、总体)、QMT所测量的)和/或患者报告的结果(PRO,包括PROMIS-身体功能简表[SF]20a和PROMIS-疲劳SF 8a)。在一些实施例中,用本申请的药物组合物治疗的患者在运动功能(例如,通过6MWD测量)、肺或呼吸功能(例如,通过FVC测量)和/或肌肉力量(例如,通过MMT测量)方面显示出比用常规rhGAA产品(例如,MYOZYME®、LUMIZYME®或NEXVIAZYME®)治疗的患者更大(例如,更大的临床意义)的改善。在一些实施例中,这种更大的改善持续长达或贯穿12、24、36、48或>48个月的治疗。

[0263] 在一些实施例中,用本申请的药物组合物治疗的经历过ERT的转换患者(例如从常规rhGAA产品(例如,MYOZYME®、LUMIZYME®或NEXVIAZYME®)转换为本申请的药物组合物的那些患者)当与继续使用常规rhGAA产品的患者相比时在以下方面显示出更大的(例如,更大的有临床意义)的改善:运动功能(例如,如通过6MWD、GSGC、10m步行、爬4级楼梯、高尔斯、椅子测试、TUG所测量的)、肺功能或呼吸功能、或改善或稳定的PFT(例如,如通过预测FVC%(坐姿和仰卧)、SVC、MIP、MEP和SNIP所测量的)、生物标志物水平(例如,血清CK和尿液Hex4)、稳定或改善的所有测试身体部位的肌肉力量(例如,如通过MMT(下肢、上肢、总体)、QMT所测量的)和/或患者报告的结果(PRO,包括PROMIS-身体功能简表[SF]20a和PROMIS-疲劳SF 8a)。在一些实施例中,接受常规rhGAA产品(例如MYOZYME®、LUMIZYME®或NEXVIAZYME®)治疗的患者(其运动功能不再改善或恶化)在植物本申请的药物组合物后在以下方面实现改善:运动功能(例如,如通过6MWD、GSGC、10m步行、爬4级楼梯、高尔斯、椅子测试、TUG所测量的)、肺功能或呼吸功能、或改善或稳定的PFT(例如,如通过预测FVC%(坐姿和仰卧)、SVC、MIP、MEP和SNIP所测量的)、生物标志物水平(例如,血清CK和尿液Hex4)、稳定或改善的所有测试身体部位的肌肉力量(例如,如通过MMT(下肢、上肢、总体)、QMT所测量的)和/或患者报告的结果(PRO,包括PROMIS-身体功能简表[SF]20a和PROMIS-疲劳SF 8a)。在一些实施例中,这种改善持续长达或贯穿12、24、36、48或>48个月。

B.生物标志物

[0264] 受试者体内糖原累积的生物标志物,例如尿己糖四糖(Hex4),可用于评估和比较酶替代疗法在患有庞贝病的受试者中的治疗效果。在一些实施例中,rhGAA或包含rhGAA的药物组合物对糖原累积的治疗效果通过测量受试者的尿Hex4水平来评估。

[0265] 肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天冬氨酸氨基转移酶(AST)等肌肉损伤或损伤的生物标志物可用于评估和比较在患有庞贝病的受试者中酶替代疗法的治疗效果。在一些实施例中,rhGAA或包含rhGAA的药物组合物对肌肉损伤的治疗效果通过测量受试者中CK、LDH、ALT和/或AST的水平来评估。在至少一个实施例中,rhGAA或包含rhGAA的药物组合物对肌肉损伤的治疗效果通过测量受试者中的CK水平来评估。

[0266] 生物标志物如LAMP-1、LC3和戴斯富林蛋白也可用于评估和比较本文所述的rhGAA或药物组合物的治疗效果。在庞贝病中,GAA不能水解溶酶体糖原导致某些组织中充满糖原的大溶酶体异常累积。(Raben等人,JBC[生物化学杂志]273:19086-19092,1998.)对庞贝病小鼠模型的研究表明,骨骼肌中增大的溶酶体不能充分解释机械性能的下降,并且含有降解的肌原纤维(即,自噬堆积)的大包涵体的存在会导致肌肉功能受损。(Raben等人,Human Mol Genet[人类分子遗传学]17:3897-3908,2008.)报告还表明,自噬通量受损与庞贝病患者的不良治疗结果有关。(Nascimbeni等人,Neuropathology and Applied Neurobiology[神经病理学和应用神经生物学]doi:10.1111/nan.12214,2015;Fukuda等人,Mol Ther[分子疗法]14:831-839,2006.)此外,迟发性庞贝病在未分类的肢带型肌营养不良症(LGMD)中普遍存在(Preisler等人,Mol Genet Metab[分子遗传学与代谢]110:287-289,2013),所述肢带型肌营养不良症是一组遗传异质性神经肌肉疾病,其具有超过30种不同严重程度的遗传定义亚型。IHC检查显示Gaa KO小鼠骨骼肌纤维中戴斯富林蛋白在肌浆的存在显著升高。

[0267] 可以使用各种已知方法来测量此类生物标志物的基因表达水平和/或蛋白质水平。例如,可以获得来自用本文描述的rhGAA或药物组合物治疗的受试者的样品,例如组织活检,特别是肌肉活检。在一些实施例中,样品是受试者肌肉的活检。在一些实施例中,肌肉选自股四头肌、三头肌和腓肠肌。从受试者获得的样品可以用一种或多种抗体或检测此类生物标志物的其他检测剂染色或通过质谱法鉴定和定量。还可以或备选地处理样品以通过例如RT-qPCR方法检测编码生物标志物的核酸例如mRNA的存在。

[0268] 在一些实施例中,一种或多种生物标志物的基因表达水平和/或蛋白质水平在从用本文描述的rhGAA或药物组合物治疗之前和之后的个体获得的肌肉活检中测量。在一些实施例中,一种或多种生物标志物的基因表达水平和/或蛋白质水平在获自用媒剂治疗的个体的肌肉活检中测量。在一些实施例中,与用媒剂治疗的受试者的基因表达水平和/或蛋白质水平或治疗前受试者的基因表达水平和/或蛋白质水平相比,在施用一剂或多剂本文所述的rhGAA或药物组合物后,一种或多种生物标志物的基因表达水平和/或蛋白质水平降低10%、20%、30%、40%或50%(或之间的任何百分比)。在一些实施例中,与用媒剂治疗的受试者的基因表达水平和/或蛋白质水平或治疗前受试者的基因表达水平和/或蛋白质水平相比,在施用一剂或多剂rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)或包含rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)的药物组合物后,一种或多种生物标志物的基因表达水平和/或蛋白质水平降低10%、20%、30%、40%或50%(或之间的任何百分比)。在某些实施例中,降低是在施用1周、2周、3周、1个月、2个月或更长时间后(或两者之间的任何时间段)实现的。

在某些实施例中,rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)或包含rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)的药物组合物在自施用起1周、2周、3周、1个月、2个月或更长时间(或之间的任何时间段)后降低一种或多种生物标志物的基因表达水平和/或蛋白质水平。

C.rhGAA的剂量

[0269] 将该药物配制品或经重构的组合物以治疗有效量施用(例如,当以规律间隔施用时,足以治疗疾病的剂量,如通过减轻与疾病相关的症状,延迟疾病的发病,和/或减轻疾病的症状的严重性或频率实现的)。在治疗疾病中治疗有效的量取决于疾病影响的性质和程度,并且可以通过标准临床技术来确定。另外,可以任选地采用体外或体内测定来帮助鉴定最佳剂量范围。在至少一个实施例中,本文所述的rhGAA或包含rhGAA的药物组合物以约1mg/kg至约100mg/kg,例如约5mg/kg至约30mg/kg,通常约5mg/kg至约20mg/kg的剂量施用。在至少一个实施例中,本文所述的rhGAA或药物组合物以约5mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg、约20mg/kg、约25mg/kg、约30mg/kg,约35mg/kg,约40mg/kg,约50mg/kg,约50mg/kg,约60mg/kg,约70mg/kg,约80mg/kg,约90mg/kg,或约100mg/kg的剂量施用。在一些实施例中,rhGAA以5mg/kg、10mg/kg、20mg/kg、50mg/kg、75mg/kg或100mg/kg的剂量施用。在至少一个实施例中,rhGAA或药物组合物以约20mg/kg的剂量施用。在一些实施例中,rhGAA或药物组合物与酶稳定剂同时或依次施用。在一些实施例中,酶稳定剂是麦格司他。在至少一个实施例中,麦格司他以约260mg的口服剂量施用。在至少一个实施例中,麦格司他以约195mg的口服剂量施用。对具体个体的有效剂量可以是随着时间变化的(例如,增加的或减少的),这取决于该个体的需要。例如,在生理疾病或躯体应激的时候,或如果抗-酸性α-葡糖苷酶抗体存在或增加,或如果疾病症状恶化,可以调整rhGAA和/或麦格司他的量。

[0270] 在一些实施例中,本文所述的rhGAA或药物组合物的治疗有效剂量低于常规rhGAA产品的治疗有效剂量。例如,如果常规rhGAA产品的治疗有效剂量为20mg/kg,则产生与常规rhGAA产品相同或更好的治疗效果所需的本文所述rhGAA或药物组合物的剂量可低于20mg/kg。治疗效果可以基于以上讨论的一个或多个标准(例如,心脏状态、糖原水平或生物标志物表达)来评估。在一些实施例中,本文所述的rhGAA或药物组合物的治疗有效剂量比常规rhGAA产品低至少约5%、10%、15%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多。

[0271] 在一些实施例中,本文所述rhGAA或药物组合物的治疗效果包括改善和/或稳定运动功能、改善和/或稳定肌肉力量(上身、下身或全身)、改善和/或稳定肺功能、减少疲劳、降低至少一种肌肉损伤生物标志物的水平、降低至少一种糖原累积生物标志物的水平或其组合。在一些实施例中,本文所述的rhGAA或药物组合物的治疗效果包括肌纤维中的溶酶体病理学逆转、肌纤维中的糖原含量更快和/或更有效地减少、六分钟步行测试距离增加、计时起立行走时间的减少、爬四级楼梯测试时间的减少、十米步行测试时间的减少、步态-楼梯-高尔斯-椅子得分的下降、上肢力量的增加、肩内收的改善和/或稳定、肩外展的改善和/或稳定、肘屈曲的改善和/或稳定、肘伸展的改善和/或稳定、上半身力量的改善和/或稳定、下半身力量的改善和/或稳定、全身力量的改善和/或稳定、直立(坐姿)用力肺活量的改善、最大呼气压力的改善和/或稳定、最大吸气压力的改善和/或稳定、疲劳严重程度量表得分的降低、尿己糖四糖水平的降低、肌酸激酶水平的降低、谷丙转氨酶水平的降低、天冬氨酸转氨酶水平的降低或其任何组合。

[0272] 在一些实施例中,当以相同剂量施用时,本文所述的rhGAA或药物组合物比常规

rhGAA产品更快地达到所需的治疗效果。治疗效果可以基于以上讨论的一个或多个标准(例如,心脏状态、糖原水平或生物标志物表达)来评估。例如,如果单剂量的常规rhGAA产品在一周内将被治疗个体的组织中的糖原水平降低10%,那么当施用相同剂量的本文所述的rhGAA或药物组合物时,可以在不到一周的时间内实现相同程度的降低。在一些实施例中,当以相同剂量施用时,本文所述的rhGAA或药物组合物可达到所需的治疗效果,比常规rhGAA产品快至少约1.25、1.5、1.75、2.0、3.0或更多。

[0273] 在一些实施例中,治疗有效量的rhGAA(或包含rhGAA的组合物或药物)被施用多于一次。在一些实施例中,本文所述的rhGAA或药物组合物根据疾病影响的性质和程度以规律的间隔持续施用。如本文中所使用,以"规律的间隔"施用表示,将该治疗有效量定期地施用(如区别于一次性剂量)。该间隔可以通过标准临床技术来确定。在某些实施例中,rhGAA每两个月一次、每月一次、每两周一次、每周一次、每周两次或每天一次施用。在一些实施例中,每周两次、每周一次或每隔一周静脉内施用rhGAA。单个个体的施用间隔不需要是固定的间隔,但是可以是随时间变化的,其取决于所述个体的需要。例如,在生理疾病或躯体应激的时候,如果抗rhGAA抗体存在或增加,或如果疾病症状恶化,可以减小剂量之间的间隔。

[0274] 在一些实施例中,当以相同剂量使用时,本文所述的rhGAA或药物组合物可以比常规rhGAA产品更低的频率施用,但仍能产生与常规rhGAA产品相同或更好的治疗效果。例如,如果常规的rhGAA产品以20mg/kg每周施用,那么当以20mg/kg施用时,本文所述的rhGAA或药物组合物可产生与常规的rhGAA产品相同或更好的治疗效果,即使rhGAA或药物组合物的施用频率更低,例如两周一次或每月一次。治疗效果可以基于以上讨论的一个或多个标准(例如,心脏状态、糖原水平或生物标志物表达)来评估。在一些实施例中,两次剂量的本文所述的rhGAA或药物组合物之间的间隔长于常规rhGAA产品的间隔。在一些实施例中,rhGAA或药物组合物两次剂量之间的间隔比常规rhGAA产品的间隔长至少约1.25、1.5、1.75、2.0、3.0或更多。

[0275] 在一些实施例中,在相同的治疗条件下(例如,以相同的间隔施用相同的剂量),本文所述的rhGAA或药物组合物提供的治疗效果优于常规rhGAA产品所提供的治疗效果。治疗效果可以基于以上讨论的一个或多个标准(例如,心脏状态、糖原水平或生物标志物表达)来评估。例如,当与每周以20mg/kg施用的常规rhGAA产品相比时,以每周20mg/kg施用的rhGAA或药物组合物可以更高程度地降低治疗个体组织中的糖原水平。在一些实施例中,当在相同治疗条件下施用时,本文所述的rhGAA或药物组合物提供的治疗效果比常规rhGAA产品的治疗效果高至少约1.25、1.5、1.75、2.0、3.0或更多。

D.双组分疗法

[0276] 在一个或多个实施例中,本文所述的rhGAA或包含rhGAA的药物组合物与酶稳定剂同时或依次施用。在一些实施例中,rhGAA或药物组合物通过与酶稳定剂相比不同的途径施用。例如,酶稳定剂可以口服施用,而rhGAA或药物组合物可以静脉内施用。

[0277] 在各种实施例中,酶稳定剂是麦格司他。不希望受任何理论的束缚,据信,当共同施用时,麦格司他稳定rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)免于体循环中的变性,这增强了活性组分rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)向溶酶体的递送。

[0278] 在一些实施例中,麦格司他以约50mg至约600mg的口服剂量施用。在至少一个实施例中,将麦格司他按以约200mg至约600mg的口服剂量,或以约200mg、约250mg、约300mg、约

350mg、约400mg、约450mg、约500mg、约550mg或约600mg的口服剂量施用。在至少一个实施例中,将麦格司他以约233mg至约500mg的口服剂量施用。在至少一个实施例中,将麦格司他按以约250至约270mg的口服剂量,或约250mg、约255mg、约260mg、约265mg或约270mg的口服剂量施用。在至少一个实施例中,麦格司他以约260mg的口服剂量施用。

[0279] 本领域技术人员将理解,在约200mg至600mg范围内或任何更小范围内的麦格司他口服剂量可适合成年患者,这取决于他/她的体重。例如,对于体重显著低于约70kg的患者,包括但不限于婴儿、儿童或体重不足的成人,医生可以认为更小的剂量是适合的。因此,在至少一个实施例中,麦格司他以约50mg至约200mg的口服剂量,或以约50mg、约75mg、约100mg、约125mg、约130mg、约150mg、约175mg、约195mg、约200mg或约260mg的口服剂量施用。在至少一个实施例中,麦格司他以约65mg至约195mg的口服剂量、约65mg至约260mg的口服剂量、约195mg至约260mg的口服剂量,或约65mg、约130mg、约195mg或约260mg的口服剂量施用。

[0280] 在一些实施例中,rhGAA(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)和麦格司他的起始剂量可以基于体重(参见,例如,表)。在一些实施例中,可以调整麦格司他剂量并且可以在改变麦格司他剂量之前在连续2次输注就诊时确认体重增加或减少。

表6:示例性rhGAA和麦格司他剂量方案

年龄组	体重组(kg)	rhGAA的起始剂量(例如,ATB200或西帕葡糖苷酶α)(mg/kg)	麦格司他剂量(mg)
成人	40至<50	20	195[a]
	≥50	20	260[b]

[a]以三个65mg胶囊或195mg口服液剂型施用的剂量

[b]以四个65mg胶囊或以260mg口服液体剂型施用的剂量

[0281] 麦格司他表现出线性药代动力学,浓度-时间曲线下的血浆面积(AUC)和最大浓度(C_{max})与从130mg(体重≥50kg的患者中推荐剂量260mg的0.5倍)增加至260mg的剂量大致成正比。在推荐的260mg剂量,平均C_{max}约为3mcg/mL和平均AUC约为25mcg*hr/mL。达到最大浓度的平均时间为2至3小时。

[0282] 肾损害患者的麦格司他血浆浓度升高。因此,麦格司他的表观清除率随着肾功能的降低而降低。现有数据估计,与肾功能正常的患者相比,轻度(基于Cockcroft-Gault方程的肌酐清除率,CLcr 60-89mL/分钟)、中度(CLcr 30-59mL/分钟)和重度(CLcr 15-29mL/分钟)肾损害患者的麦格司他AUC_{0-24hr}分别增加21%、26%和31%。在一些实施例中,与具有正常肾功能的患者相比,具有中度或重度肾损害的患者的麦格司他剂量减少。下表7提供了中度或重度肾损害患者的示例性剂量:

表7:中度或重度肾损害患者的推荐麦格司他剂量

	中度肾损害[1] （CLcr 30-59 mL/分钟）	严重肾损害[1] （CLcr 15-30 mL/分钟）
患者体重 ≥50 kg	195 mg	195 mg
患者体重 ≥40 kg 至 <50 kg	130 mg	130 mg

[1]根据Cockcroft-Gault方程按肌酐清除率分类的肾功能。

[0283] 在一些实施例中,对于轻度肾损害患者(基于Cockcroft-Gault方程的肌酐清除率,CLcr 60-89mL/分钟),推荐的麦格司他剂量与肾功能正常的患者相同。

[0284] 在一个或多个实施例中,rhGAA剂量不针对肾损害患者进行调整。

[0285] 现有的动物药效学/毒理学数据表明,西帕葡糖苷酶α会分泌到乳中。不知道麦格司他是否分泌到母乳中。不能排除对新生儿/母乳喂养婴儿的风险。应考虑母乳喂养对发育和健康的益处,以及母亲接受西帕葡糖苷酶α和麦格司他共同施用疗法的临床需要,以及母乳喂养的儿童经历的可能与西帕葡糖苷酶α和麦格司他共同施用或潜在的母体疾病有关的任何不良反应。在一些实施例中,在服用西帕葡糖苷酶α和麦格司他时不允许母乳喂养。

[0286] 没有临床数据表明西帕葡糖苷酶α和麦格司他共同施用疗法对生育力的影响。临床前数据未显示使用西帕葡糖苷酶α有任何明显的不良反应。

[0287] 在7名健康成年男性中,每天两次口服100mg麦格司他,持续6周,未观察到对精子浓度、活力或形态的影响。大鼠的临床前数据表明,麦格司他会对精子特性(活动性和形态)产生负面影响,从而降低生育能力。

[0288] 在一些实施例中,rhGAA以约5mg/kg至约20mg/kg的剂量静脉内施用并且麦格司他以约50mg至约600mg的剂量口服施用。在一些实施例中,rhGAA以约5mg/kg至约20mg/kg的剂量静脉内施用并且麦格司他以约50mg至约200mg的剂量口服施用。在一些实施例中,rhGAA以约5mg/kg至约20mg/kg的剂量静脉内施用并且麦格司他以约200mg至约600mg的剂量口服施用。在一些实施例中,rhGAA以约5mg/kg至约20mg/kg的剂量静脉内施用并且麦格司他以约200mg至约500mg的剂量口服施用。在一个实施例中,rhGAA以约20mg/kg的剂量实施静脉内施用并且将麦格司他以约260mg的剂量口服施用。在一些实施例中,rhGAA以约5mg/kg至约20mg/kg的剂量静脉内施用并且麦格司他以约130mg至约200mg的剂量口服施用。在一个实施例中,rhGAA以约20mg/kg的剂量实施静脉内施用并且将麦格司他以约195mg的剂量口服施用。

[0289] 在患有LOPD的成年患者中,施用20mg/kg西帕葡糖苷酶α与单次口服剂量260mg麦格司他后,西帕葡糖苷酶α的血浆浓度-时间曲线下面积(AUC)和最大血浆浓度(Cmax)总结在如下表8中:

表8.经历过ERT的成年LOPD患者中西帕葡糖苷酶α的平均(CV%)药代动力学参数

	西帕葡糖苷酶 α 20 mg/kg 与麦格司他 260 mg 组合	西帕葡糖苷酶 α 20 mg/kg 不含麦格司他
C_{max} (mcg/mL)	345 (18.5)	325 (13.5)
$AUC_{0\text{-}inf}$ (mcg*h/mL)	1812 (20.8)	1410 (15.9)

[0290] 在一些实施例中,同时施用麦格司他和rhGAA。例如,麦格司他可以在施用rhGAA之前或之后的10、9、8、7、6、5、4、3、2或1分钟内施用。在一些实施例中,麦格司他在施用rhGAA之前或之后的5、4、3、2或1分钟内施用。

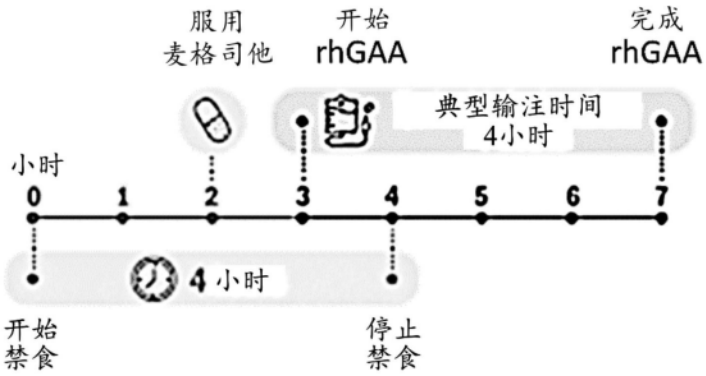
[0291] 在一些实施例中,依次施用麦格司他和rhGAA。在至少一个实施例中,麦格司他在施用rhGAA之前施用。在至少一个实施例中,麦格司他在施用rhGAA之前不到三小时施用。在至少一个实施例中,麦格司他在施用rhGAA之前约两小时施用。在至少一个实施例中,麦格司他在施用rhGAA之前50分钟至90分钟的范围内施用。例如,麦格司他可以在施用rhGAA之前约1.5小时、约1小时、约50分钟、约30分钟或约20分钟施用。在至少一个实施例中,麦格司他在施用rhGAA之前约一小时施用。在一些实施例中,麦格司他在给药rhGAA之前约一小时口服施用。

[0292] 在一些实施例中,麦格司他在施用rhGAA之后施用。在至少一个实施例中,麦格司他在施用rhGAA之后三小时内施用。在至少一个实施例中,麦格司他在施用rhGAA之后两小时内施用。例如,麦格司他可以在施用rhGAA之后约1.5小时、约1小时、约50分钟、约30分钟或约20分钟内施用。

[0293] 在一些实施例中,受试者在施用麦格司他之前禁食至少两小时。在一些实施例中,受试者在施用麦格司他之后禁食至少两小时。在一些实施例中,受试者在施用麦格司他之前禁食至少两小时和之后禁食至少两小时。

[0294] 在一些实施例中,受试者在施用麦格司他之前禁食至少两小时和之后禁食至少两小时,并且麦格司他在给药rhGAA之前约一小时施用。在一些实施例中,禁食、麦格司他施用和rhGAA施用遵循以下给药时间线:

给药时间表



[0295] 在一些实施例中,与(1)基线或(2)包括施用阿葡糖苷酶α和针对酶稳定剂的安慰剂的对照治疗相比,根据本披露的双组分疗法改善患有庞贝病的受试者的一个或多个疾病症状。在这种对照治疗中,施用安慰剂代替酶稳定剂。

[0296] 本文提供了一种用于使患有庞贝病的受试者的运动功能和/或肺功能改善和/或

稳定持续至少24个月、至少36个月或至少48个月的方法,该方法包括向该受试者与酶稳定剂同时或依次地施用重组人酸性α-葡糖苷酶(rhGAA)分子群;其中每个rhGAA分子包含七个潜在N-糖基化位点;其中rhGAA分子上40%-60%的N-聚糖为复合型N-聚糖;其中如使用液相色谱串联质谱(LC-MS/MS)所测定,rhGAA分子在第一潜在N-糖基化位点处包含至少0.5mol双-甘露糖-6-磷酸(双-M6P)/mol rhGAA;并且其中,与基线相比,该方法改善和/或稳定了受试者的运动功能和/或肺功能。

[0297] 在一些实施例中,通过双组分疗法治疗的受试者是经历过ERT的患者。在一些实施例中,经历过ERT的受试者先前已用阿葡糖苷酶α治疗。在一些实施例中,经历过ERT的受试者先前已用阿葡糖苷酶α治疗约2年至约6年。在一些实施例中,经历过ERT的受试者先前已用阿葡糖苷酶α治疗至少约7年。在一些实施例中,经历过ERT的受试者是不能行走的。在一些实施例中,经历过ERT的受试者是能行走的。在一些实施例中,受试者是ERT初治受试者。

[0298] 在一些实施例中,通过双组分疗法治疗的受试者是ERT初治患者。

[0299] 在一些实施例中,根据本披露的双组分疗法改善和/或稳定受试者的运动功能,如通过6分钟步行测试(6MWT)所测量的。在一些实施例中,与基线相比,在12、26、38或52周后,或在治疗12、18、24、30、36或48个月后,受试者的6分钟步行距离(6MWD)增加至少5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、35、40、45或50米或至少1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%或10%。在一些实施例中,受试者的6MWD在治疗52周后增加至少20米或至少5%。在一些实施例中,受试者的6MWD在治疗12、18、24、30、36或48个月后增加至少20米或至少5%。在一些实施例中,与对照治疗相比,受试者的6MWD在12、26、38或52周后或治疗18、24、30、36或48个月后改善至少5、6、7、8、9、10、12、14、16、18、20、30、40或50米。在一些实施例中,与对照治疗相比,受试者的6MWD在治疗52周后改善至少13米。在用于治疗经历过ERT的受试者的方法的一些实施例中,运动功能通过6分钟步行测试来测量;以及在开始治疗后12、18、24、30、36或48个月,6分钟步行距离(6MWD)相对于基线的改善为至少15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34或35米。在用于治疗经历过ERT的受试者的方法的一些实施例中,运动功能通过6分钟步行测试来测量;以及在开始治疗后36或48个月,6分钟步行距离(6MWD)相对于基线的改善为至少5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、41、42、43、44、45、46或47米。

[0300] 在用于治疗ERT初治受试者的方法的一些实施例中,运动功能通过6分钟步行测试来测量;以及在开始治疗后12、24、36或48个月,6分钟步行距离(6MWD)相对于基线的改善为至少40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59或60米。在用于治疗ERT初治受试者的方法的一些实施例中,运动功能通过6分钟步行测试来测量;以及在开始治疗后36或48个月,6分钟步行距离(6MWD)相对于基线的改善为至少34、35、40、41、42、43、44或45米。在一些实施例中,受试者具有小于300米的基线6MWD。在一些实施例中,受试者具有大于或等于300米的基线6MWD。

[0301] 在一些实施例中,根据本披露的双组分疗法稳定受试者的肺功能,如通过用力肺活量(FVC)测试测量的。在一些实施例中,在12、26、38或52周后,或在治疗18、24、30、36或48个月后,受试者的预测FVC百分比与基线相比增加或与基线相比减少小于0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%或10%。在一些实施例中,在治疗52周后,受试者的预测FVC百分比与基线相比减少小于

1%。在一些实施例中,治疗12、18、24、30、36或48个月后与基线相比,受试者的预测FVC百分比增加至少1%、至少2%、至少3%或至少5%。在一些实施例中,与对照治疗相比,受试者的预测FVC百分比在治疗后显著改善和/或稳定。在一些实施例中,与对照治疗相比,在12、26、38或52周后,或治疗18、24、30、36或48个月后,受试者的预测FVC百分比显著改善至少0.5%、1%、2%、3%、4%、5%或6%。在一些实施例中,与对照治疗相比,在治疗52周后,受试者的预测FVC百分比显著改善至少3%。在一些实施例中,与对照治疗相比,在治疗12、18、24、30、36或48个月后,受试者的预测FVC百分比显著改善至少3%或至少5%。在用于治疗经历过ERT的受试者的方法的一些实施例中,肺功能通过坐姿用力肺活量(FVC)测试测量,并且在开始治疗后24、36或48个月,受试者的预测FVC百分比与基线相比是稳定的。在用于治疗ERT初治受试者的方法的一些实施例中,肺功能通过坐姿用力肺活量(FVC)测试来测量;以及在开始治疗后24个月,受试者的预测FVC百分比相对于基线的改善至少为4.0%、4.1%、4.2%、4.3%、4.4%、4.5%、4.6%、4.7%、4.8%、4.9%、5.0%、5.5%、6.0%、6.4%、6.5%、6.6%、6.7或6.8%。在用于治疗ERT初治受试者的方法的一些实施例中,肺功能通过坐姿用力肺活量(FVC)测试来测量;以及在开始治疗后36或48个月,受试者的预测FVC百分比相对于基线的改善为至少5.7%、5.8%、5.9%、6.0%、6.1%或6.2%。在一些实施例中,受试者具有小于55%的基线FVC。在一些实施例中,受试者具有大于或等于55%的基线FVC。在一些实施例中,受试者具有小于50%的基线FVC。在一些实施例中,受试者具有大于或等于50%的基线FVC。

[0302] 在一些实施例中,根据本披露的双组分疗法改善和/或稳定受试者的肌肉力量,如通过徒手肌力测试(MMT)测量的。在一些实施例中,与基线相比,受试者的MMT下肢得分得到改善,如在12、26、38或52周后,或在治疗12、18、24、30、36或48个月后,增加至少0.1、0.3、0.5、0.7、1.0、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5分所示。在一些实施例中,与对照治疗相比,受试者的MMT下肢得分在治疗后显著改善和/或稳定。在用于治疗经历过ERT的受试者的方法的一些实施例中,肌肉力量通过MMT测量;以及在开始治疗后24个月,MMT下肢得分相对于基线的改善为至少1.9、2、2.1、2.2或2.3分。在用于治疗经历过ERT的受试者的方法的一些实施例中,肌肉力量通过MMT测量;以及在开始治疗后36或48个月,MMT下肢得分相对于基线的改善为至少1.5、1.6、1.7、1.8或1.9分。在用于治疗ERT初治受试者的方法的一些实施例中,肌肉力量通过MMT测量;以及在开始治疗后24个月,MMT下肢得分相对于基线的改善为至少1.0、1.1、1.2、1.3、1.4或1.5分。在用于治疗ERT初治受试者的方法的一些实施例中,肌肉力量通过MMT测量;以及在开始治疗后36或48个月,MMT下肢得分相对于基线的改善为至少2.8、2.9、3.0、3.1、3.2或3.3分。在一些实施例中,受试者具有小于25的基线MMT下肢得分。在一些实施例中,受试者具有大于或等于25的基线MMT下肢得分。

[0303] 在一些实施例中,根据本披露的双组分疗法改善和/或稳定受试者的运动功能,如通过步态、楼梯、高尔斯、椅子(GSGC)测试所测量的。在一些实施例中,与基线相比,受试者的GSGC得分改善,如在12、26、38或52周后,或在治疗18、24、30、36或48个月后,减少至少0.1、0.3、0.5、0.7、1.0、1.5或2.5分所示。在一些实施例中,与基线相比,受试者的GSGC得分改善,如治疗52周后至少减少0.5分所示。在一些实施例中,与对照治疗相比,受试者的GSGC得分在治疗后显著改善。在一些实施例中,与对照治疗相比,受试者的GSGC得分显著改善,

如在12、26、38或52周后,或在治疗18、24、30、36或48个月后,减少至少0.3、0.5、0.7、1.0、1.5、2.5或5分所示。在一些实施例中,与对照治疗相比,受试者的GSGC得分显著改善,如治疗52周后减少至少1.0分所示。

[0304] 在一些实施例中,根据本披露的双组分疗法改善受试者的心脏功能。在一些实施例中,该疗法改善了受试者的心脏功能,如通过左心室质量指数(LVMi)测量的。

[0305] 在一些实施例中,根据本披露的双组分疗法在治疗后降低至少一种肌肉损伤标志物的水平。在一些实施例中,肌肉损伤标志物包括肌酸激酶(CK)、丙氨酸转氨酶(ALT)和天冬氨酸转氨酶(AST)中的一种或多种。在一些实施例中,至少一种肌肉损伤标志物包括CK。在一些实施例中,与基线相比,受试者的CK水平在12、26、38或52周后,或在治疗18、24、30或36个月后降低至少10%、15%、20%、25%、30%、40%或50%。在一些实施例中,与基线相比,受试者的CK水平在治疗52周后降低至少20%。在一些实施例中,与对照治疗相比,受试者的CK水平在治疗后显著降低。在一些实施例中,与对照治疗相比,受试者的CK水平在12、26、38或52周后,或在治疗18、24、30或36个月后显著降低至少10%、15%、20%、25%、30%、40%或50%。在一些实施例中,与对照治疗相比,受试者的CK水平在治疗52周后显著降低至少30%。

[0306] 在一些实施例中,根据本披露的双组分疗法在治疗后降低至少一种糖原累积标志物的水平。在一些实施例中,糖原累积的至少一种标志物包括尿己糖四糖(Hex4)。在一些实施例中,与基线相比,受试者的尿Hex4水平在12、26、38或52周后,或在治疗18、24、30或36个月后降低至少10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%或60%。在一些实施例中,与基线相比,受试者的尿Hex4水平在治疗52周后降低至少30%。在一些实施例中,与对照治疗相比,受试者的尿Hex4水平在治疗后显著降低。在一些实施例中,与对照治疗相比,受试者的尿Hex4水平在12、26、38或52周后,或在治疗18、24、30或36个月后显著降低至少10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%或60%。在一些实施例中,与对照治疗相比,受试者的尿Hex4水平在治疗52周后显著降低至少40%。

[0307] 在一些实施例中,与(1)基线或(2)包括施用阿葡糖苷酶α和酶稳定剂安慰剂的对照治疗相比,根据本披露的双组分疗法改善和/或稳定经历过ERT的庞贝病的患者受试者中的一个或多个疾病症状。

[0308] 在一些实施例中,根据本披露的双组分疗法改善生活质量和/或患者报告的结果测量,诸如通过欧洲生活质量-五维五水平(EQ 5D 5L/EQ-5D-Y)问卷和/或患者报告结果测量信息系统(PROMIS身体功能、PROMIS疲劳、PROMIS呼吸困难)。

[0309] 在一些实施例中,根据本披露的双组分疗法减少、延迟和/或维持使用者对移动或呼吸支持装置的需求,诸如通过监测移动辅助装置的使用开始时间/变化和装置类型和/或监测呼吸支持的使用开始时间/变化和支持类型。

[0310] 在一些实施例中,如通过6MWT测量的,用于患有庞贝病的经历过ERT的受试者的双组分疗法改善和/或稳定受试者的运动功能。在一些实施例中,与基线相比,在12、26、38或52周后,或在治疗18、24、30、36或48个月后,受试者的6MWD增加至少10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、或50米或至少1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%或10%。在一些实施例中,受试者的6MWD在治疗52周后增加至少15米或至少5%。在一些实施例中,受试者的6MWD在治疗24个月后增加至少25米或至少6%。在一些实施例中,受试

者的6MWD在治疗36个月后增加至少10米或至少2%。在一些实施例中,受试者的6MWD在治疗52周后增加至少20米或至少5%。在一些实施例中,与对照治疗相比,受试者的6MWD在治疗后显著改善。在一些实施例中,与对照治疗相比,在12、26、38或52周后或治疗18、24、30、36或48个月后,受试者的6MWD显著改善至少10、12、14、15、16、18、20、30、40或50米。在一些实施例中,与对照治疗相比,受试者的6MWD在治疗52周后显著改善至少15米。在一些实施例中,受试者具有小于300米的基线6MWD。在一些实施例中,受试者具有大于或等于300米的基线6MWD。

[0311] 在一些实施例中,如通过FVC测试测量,用于患有庞贝病的经历过ERT的受试者的双组分疗法改善和/或稳定受试者的肺功能。在一些实施例中,在12、26、38或52周后,或在治疗18、24、30、36或48个月后,受试者的预测FVC百分比与基线相比增加至少0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、1%、2%、3%、4%或5%。在一些实施例中,在治疗52周后,受试者的预测FVC百分比与基线相比增加至少0.1%。在一些实施例中,与对照治疗相比,受试者的预测FVC百分比在治疗后显著改善和/或稳定。在一些实施例中,与对照治疗相比,在12、26、38或52周后,或治疗18、24、30、36或48个月后,受试者的预测FVC百分比显著改善至少1%、2%、3%、4%、5%、6%、8%或10%。在一些实施例中,与对照治疗相比,在治疗52周后,受试者的预测FVC百分比显著改善至少4%。在一些实施例中,受试者具有小于55%的基线FVC。在一些实施例中,受试者具有大于或等于55%的基线FVC。

[0312] 在一些实施例中,如通过GSGC测试测量,用于患有庞贝病的经历过ERT的受试者的双组分疗法改善和/或稳定受试者的运动功能。在一些实施例中,与基线相比,受试者的GSGC得分改善,如在12、26、38或52周后,或在治疗18、24、30、36或48个月后,减少至少0.1、0.3、0.5、0.7、1.0、1.5或2.5分所示。在一些实施例中,与基线相比,受试者的GSGC得分改善,如治疗52周后至少减少0.5分所示。在一些实施例中,与对照治疗相比,受试者的GSGC得分在治疗后显著改善和/或稳定。在一些实施例中,与对照治疗相比,受试者的GSGC得分显著改善,如在12、26、38或52周后,或在治疗18、24、30、36或48个月后,减少至少0.3、0.5、0.7、1.0、1.5、2.5或5分所示。在一些实施例中,与对照治疗相比,受试者的GSGC得分显著改善,如治疗52周后减少至少1.0分所示。

[0313] 在一些实施例中,用于患有庞贝病的经历过ERT的受试者的双组分疗法降低治疗后肌肉损伤的至少一种标志物的水平。在一些实施例中,至少一种肌肉损伤标志物包括CK。在一些实施例中,与基线相比,受试者的CK水平在12、26、38或52周后,或在治疗18、24、30、36或48个月后降低至少10%、15%、20%、25%、30%、40%或50%。在一些实施例中,与基线相比,受试者的CK水平在治疗52周后降低至少15%。在一些实施例中,与基线相比,受试者的CK水平在治疗24个月后降低至少25%。在一些实施例中,与基线相比,受试者的CK水平在治疗36个月后降低至少30%。在一些实施例中,与基线相比,受试者的CK水平在治疗48个月后降低至少35%。在一些实施例中,与对照治疗相比,受试者的CK水平在治疗后显著降低。在一些实施例中,与对照治疗相比,受试者的CK水平在12、26、38或52周后,或在治疗18、24、30、36或48个月后显著降低至少10%、15%、20%、25%、30%、40%或50%。在一些实施例中,与对照治疗相比,受试者的CK水平在治疗52周后显著降低至少30%。

[0314] 在一些实施例中,用于患有庞贝病的经历过ERT的受试者的双组分疗法降低治疗后糖原累积的至少一种标志物的水平。在一些实施例中,糖原累积的至少一种标志物包括

尿Hex4。在一些实施例中,与基线相比,受试者的尿Hex4水平在12、26、38或52周后,或在治疗18、24、30或36个月后降低至少10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%或60%。在一些实施例中,与基线相比,受试者的尿Hex4水平在治疗52周后降低至少25%。在一些实施例中,与基线相比,受试者的尿Hex4水平在治疗36个月后降低至少35%。在一些实施例中,与基线相比,受试者的尿Hex4水平在治疗48个月后降低至少30%。在一些实施例中,与对照治疗相比,受试者的尿Hex4水平在治疗后显著降低。在一些实施例中,与对照治疗相比,受试者的尿Hex4水平在12、26、38或52周后,或在治疗18、24、30或36个月后显著降低至少10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%或60%。在一些实施例中,与对照治疗相比,受试者的尿Hex4水平在治疗52周后显著降低至少40%。

E.试剂盒

[0315] 本披露的另一个方面涉及适用于进行本文所述的rhGAA疗法的试剂盒。在一个或多个实施例中,该试剂盒包括含有rhGAA或药物组合物(冻干前或后)的容器(例如,小瓶、管、袋等)以及重构、稀释和施用的说明书。在一个或多个实施例中,该试剂盒包括含有酶稳定剂(例如麦格司他)和含rhGAA的药物组合物(冻干前或冻干后)的容器(例如小瓶、管、袋等),以及rhGAA与酶稳定剂重构、稀释和施用的说明书。

实例

[0316] 本发明通过以下非限制性实例进一步说明。

实例1:产生具有高含量的带有单-M6P或双-M6P的N-聚糖的rhGAA的CHO细胞的制备。

[0317] 用表达rhGAA的DNA构建体转染DG44 CHO(DHFR-)细胞。DNA构建体如图4所示。转染后,使用次黄嘌呤/胸苷缺乏(-HT)培养基选择含有稳定整合的GAA基因的CHO细胞。通过甲氨蝶呤处理(MTX,500nM)来诱导这些细胞中的GAA表达。

[0318] 通过GAA酶活性测定来鉴定大量表达的GAA的细胞池,并且用于建立产生rhGAA的单个克隆。在半固体培养基板上产生单个克隆,通过ClonePix系统挑选,并且转移至24深孔板。针对GAA酶活性测定单个克隆,以鉴定表达高水平GAA的克隆。用于确定GAA活性的条件培养基使用了4-MU-α-葡糖苷酶底物。针对生存力、生长能力、GAA生产率、N-聚糖结构和稳定的蛋白表达来进一步评估如通过GAA酶测定所测量的产生更高水平的GAA的克隆。CHO细胞系(包括CHO细胞系GA-ATB200,表达具有增强的单-M6P或双-M6P N-聚糖的rhGAA)是使用该程序分离的。

实例2:rhGAA的纯化

[0319] 使用CHO细胞系GA-ATB200在摇瓶和灌注生物反应器中生产根据本披露的多批次rhGAA,其产品称为“ATB200”。根据末端磷酸盐和唾液酸,弱阴离子交换(“WAX”)液相色谱用于分级分离ATB200 rhGAA。通过用递增量的盐洗脱ERT来产生洗脱图。通过UV(A280 nm)监测该图。对于来自不同生产批次的纯化ATB200rhGAA,观察到类似的CIMPR受体结合(至少约70%)分布图(图5),表明可以一致地生产ATB200 rhGAA。

实例3:ATB200 rhGAA的寡糖特性

[0320] 使用不同的LC-MS/MS分析技术分析ATB200 rhGAA的位点特异性N-聚糖谱。前两种LC-MS/MS方法的结果如图6A-6H所示。具有2-AA聚糖图谱的第三种LC-MS/MS方法的结果显示在图19A-19H、图20A-20B和表9中。

[0321] 在第一LC-MS/MS分析中,蛋白质在LC-MS/MS分析之前进行了变性、还原、烷基化和消化。在蛋白质变性和还原过程中,200μg蛋白质样品、5μL 1mol/Ltris-HCl(终浓度50mM)、75μL 8mol/L胍HCl(终浓度6M)、1μL 0.5mol/L EDTA(终浓度5mM)、2μL的1mol/L DTT(终浓度20mM)和Milli-Q®水添加到1.5mL试管中以提供100μL的总体积。在干浴中,将该样品混合,并且在56℃下孵育30分钟。在烷基化过程中,将变性和还原的蛋白质样品与5μL的1mol/L碘乙酰胺(IAM,终浓度50mM)混合,然后在10-30℃下避光孵育30分钟。烷基化作用之后,将400μL预冷的丙酮添加至该样品中,并且将该混合物在-80℃制冷中冷冻4小时。然后将该样品以13000rpm在4℃下离心5min,并且去除该上清液。将400μL预冷的丙酮添加至球粒中,然后将其以13000rpm在4℃下离心5min,并且去除该上清液。然后将该样品在黑暗中,在冰上风干以去除丙酮残余。将四十微升的8M脲和160μL 100mM NH_4HCO_3添加到样品中以溶解蛋白质。在胰蛋白酶消化过程中,然后将50μg蛋白质与胰蛋白酶消化缓冲液一起添加至100μL的最终体积,并添加5μL 0.5mg/mL胰蛋白酶(蛋白质比酶的比例为20/1w/w)。将溶液充分混合并在37℃下孵育过夜(16±2小时)。添加两点五微升的20% TFA(终浓度0.5%)以淬灭反应。然后使用Thermo Scientific™ Orbitrap Velos Pro™质谱仪分析样品。

[0322] 在第二LC-MS/MS分析中,根据类似的变性、还原、烷基化和消化程序制备ATB200样品,不同之处是使用碘乙酸(IAA)代替IAM作为烷基化试剂,然后使用Thermo Scientific™ Orbitrap Fusion™ Lumos Tribid™质谱仪进行分析。

[0323] 第一分析和第二分析的结果显示在图6A-6H中。在图6A-6H中,第一分析的结果由左柱(深灰色)表示,第二分析的结果由右柱(浅灰色)表示。聚糖表示的符号命名法与Varki,A.,Cummings,R.D.,Esko J.D.,等人,Essentials of Glycobiology[糖生物学精要],第2版(2009)一致。

[0324] 从图6A-6H可以看出,两种分析提供了相似的结果,尽管结果之间存在一些差异。该变化可以归因于多个因素,包括使用的仪器和N-聚糖分析的完整性。例如,如果某些种类的磷酸化N-聚糖未被鉴定和/或未被定量,则磷酸化N-聚糖的总数可能被低估,并且在该位点处携带磷酸化N-聚糖的rhGAA的百分比可能被低估。作为另一个实例,如果某些种类的非磷酸化N-聚糖未被鉴定和/或定量,那么非磷酸化N-聚糖的总数可能被低估,并且在该位点处带有磷酸化N-聚糖的rhGAA的百分比可能被高估。

[0325] 图6A显示了ATB200的N-糖基化位点占据率。从图6A可以看出,第一、第二、第三、第四、第五和第六N-糖基化位点大部分被占据,两种分析都检测到约90%或超过90%以及高达约100%的ATB200酶在每潜在N-糖基化位点检测到N-聚糖。然而,第七潜在N-糖基化位点大约有一半时间是N-糖基化的。

[0326] 图6B显示了第一潜在N-糖基化位点N84的N-糖基化谱。从图6B可以看出,主要的N-聚糖种类是双-M6P N-聚糖。第一分析和第二分析均检测到超过75%的ATB200在第一个位点处具有双-M6P,对应于在第一个位点处平均约0.8mol双-M6P/mol ATB200。

[0327] 图6C显示了第二潜在N-糖基化位点N177处的N-糖基化谱。从图6C可以看出,主要的N-聚糖种类是单-M6P N-聚糖和非磷酸化的高甘露糖N-聚糖。第一分析和第二分析均检测到超过40%的ATB200在第二位点具有单-M6P,对应于在第二位点处平均约0.4至约0.6mol单-M6P/mol ATB200。

[0328] 图6D显示了第三潜在N-糖基化位点N334处的N-糖基化谱。从图6D可以看出,主要

的N-聚糖种类是非磷酸化的高甘露糖N-聚糖、二触角、三触角和四触角复合N-聚糖,以及杂合N-聚糖。第一分析和第二分析均检测到超过20％的ATB200在第三位点具有唾液酸残基,对应于在第三位点处平均约0.9至约1.2mol唾液酸/mol ATB200。

[0329] 图6E显示了第四潜在N-糖基化位点N414处的N-糖基化谱。从图6E可以看出,主要的N-聚糖种类是双-M6P和单-M6P N-聚糖。第一分析和第二分析均检测到超过40％的ATB200在第四位点具有双-M6P,对应于在第四位点处平均约0.4至约0.6mol双-M6P/mol ATB200。第一分析和第二分析均还检测到超过25％的ATB200在第四位点具有单-M6P,对应于在第四位点处平均约0.3至约0.4mol单-M6P/mol ATB200。

[0330] 图6F显示了第五潜在N-糖基化位点N596处的N-糖基化谱。从图6F可以看出,主要的N-聚糖种类是岩藻糖基化的双触角复合N-聚糖。第一分析和第二分析均检测到超过70％的ATB200在第五位点具有唾液酸残基,对应于在第五位点处平均约0.8至约0.9mol唾液酸/mol ATB200。

[0331] 图6G显示了第六潜在N-糖基化位点N826处的N-糖基化谱。从图6G中可以看出,主要的N-聚糖种类是二触角、三触角和四触角复合N-聚糖。第一分析和第二分析均检测到超过80％的ATB200在第六位点具有唾液酸残基,对应于在第六位点处平均约1.5至约1.8mol唾液酸/mol ATB200。

[0332] 对第七个位点N869的N-糖基化分析显示大约40％ N-糖基化,最常见的N-聚糖是A4S3S3GF(12％)、A5S3G2F(10％)、A4S2G2F(8％)和A6S3G3F(8％)。

[0333] 图6H显示了七个潜在N-糖基化位点中每一个的磷酸化总结。从图6H可以看出,第一分析和第二分析都在第一、第二和第四潜在N-糖基化位点处检测到高磷酸化水平。两项分析均检测到超过80％的ATB200在第一个位点处被单磷酸化或双磷酸化,超过40％的ATB200在第二个位点处被单磷酸化,超过80％的ATB200在第四个站点处被单磷酸化或双磷酸化。

[0334] ATB200的另一个N-糖基化分析是根据如下所述的LC-MS/MS方法进行的。该分析产生十批ATB200的平均N-糖基化谱(图19A-19H,图20A-20B)。

[0335] 来自ATB200的N-连接聚糖用PNG酶-F酶促释放并用2-邻氨基苯甲酸(2-AA)标记。2-AA标记的N-聚糖通过固相萃取(SPE)进一步处理,以去除过量的盐和其他污染物。将纯化的2-AA N-聚糖溶解在乙腈/水(20/80;v/v),并将10微克装载到氨基聚合物分析柱(apHera™,Supelco)上,用于具有荧光检测的高效液相色谱(HPLC-FLD)和高分辨率质谱(HRMS)分析。

[0336] 液相色谱(LC)分离在正相条件下以梯度洗脱模式进行,流动相A(乙腈中的2％乙酸)和流动相B(5％乙酸;20毫摩尔乙酸铵水溶液,用氢氧化铵调节至pH 4.3)。初始流动相组成为70％ A/30％ B。对于荧光检测,检测器(RF-20Axs,Shimadzu)的参数为激发(Ex):320nm;发射(Em):420nm。使用以独立数据采集(IDA)模式运行的四极飞行时间质谱仪(Sciex X500B QTOF)进行HRMS分析。使用ProteoWizard的MSConvert将获取的数据文件转换为mzML文件,然后使用GRITS Toolbox 1.2Morning Blend软件(UGA)进行聚糖数据库搜索和随后对鉴定的N-聚糖进行注释。使用前体单同位素质量(m/z)和产物离子m/z鉴定N-聚糖。使用GlycoWorkbench 2应用程序在计算机上确认实验产物离子和碎裂模式。

[0337] 为了确定来自ATB200的N-连接聚糖的相对定量,按如下方式处理从HPLC-FLD-

QTOF MS/MS实验中获取的数据。对FLD色谱图中的所有N-聚糖峰进行积分,并为每个峰指定占FLD色谱图中所有峰总面积的百分比。以峰面积表示的荧光信号是样品中每种N-聚糖数量的定量测量。然而,在大多数情况下,同一个FLD峰中包含多个N-聚糖种类。因此,还需要质谱仪数据以获得每种N-聚糖种类的相对定量(表9)。从数据中“提取”每个N-聚糖的离子强度信号以创建称为提取离子色谱图(XIC)的色谱峰。XIC与FLD色谱峰对齐,并且仅针对一个N-聚糖种类。然后对从离子强度信号产生的XIC峰进行积分,该峰面积是存在的聚糖量的相对定量测量。FLD峰面积和质谱仪XIC峰面积均用于实现本文报道的ATB200的所有N-连接聚糖种类的相对定量。

[0338] 该LC-MS/MS分析的结果在下表9中提供。聚糖表示的符号命名法与以下一致:Wopereis W等人2006.Abnormal glycosylation with hypersialylated O-glycans in patients with Sialuria.[唾液酸尿症患者中高唾液酸化O-聚糖的异常糖基化]Biochimica et Biophysica Acta.[生物化学与生物物理学报]1762:598-607;Gornik O等人2007.Changes of serum glycans during sepsis and acute pancreatitis.[脓毒症和急性胰腺炎期间血清聚糖的变化]Glycobiology.[糖生物学]17:1321-1332;Kattla JJ等人2011.Biologic protein glycosylation.[生物蛋白质糖基化]在:Murray Moo-Young(编辑),Comprehensive Biotechnology[综合生物技术],第二版,3:467-486;Tharmalingam-Jaikaran T等人N-glycan profiling of bovine follicular fluid at key dominant follicledevelopmental stages[牛卵泡液在关键显性卵泡发育阶段的N-聚糖分析].2014.Reproduction.[生殖]148:569-580;Clerc F等人Human plasma protein N-glycosylation.[人血浆蛋白N-糖基化]2015.Glycoconj J.DOI 10.1007/s10719-015-9626-2;和Blackler RJ等人2016.Single-chain antibody-fragment M6P-1possesses a mannose 6-phosphate monosaccharide-specific binding pocket that distinguishes N-glycan phosphorylation in a branch-specific manner.[单链抗体片段M6P-1具有甘露糖6-磷酸单糖特异性结合口袋,其以分支特异性方式区分N-聚糖磷酸化]Glycobiology.[糖生物学]26-2:181-192。

表9:基于2-AA聚糖图谱和LC-MS/MS鉴定在ATB200上鉴定的寡糖的类型和普遍性

高甘露糖 N-聚糖	% 总计	复合 N-聚糖	% 总计	复合 N-聚糖	% 总计	复合 N-聚糖	% 总计
2P-M7	11.39	FA2G2S1	3.89	A3G3S1+1Ac	0.65	FA2G2S1+1Ac	0.29
P-M7	7.97	FA2G2S2	3.42	A3G2S2+1Ac	0.64	A4G3	0.29
M6	6.89	A2G2S2	3.32	A1G1S1	0.63	A4G4+3KDN	0.29
P-M6	3.42	FA2G2	2.77	A4G3S1	0.61	A4G4S3	0.28
M5	2.06	FA4G4S3	2.26	FA3G3	0.61	FA5G4	0.24
P-M5	1.67	A2G2S1	2.25	A1G1	0.6	A4G3S2	0.21

2P-M8	1.27	FA3G3S1	2.12	FA2G2S2+1Ac	0.57	FA1	0.21
P-M8	1.17	A3G3S2	1.8	A3G2S1	0.57	FA4G4	0.21
BP-M6	0.9	FA2G1	1.66	A3G2S1	0.56	A3G1	0.21
M7	0.81	A2G2	1.46	A2G2S2+1Ac	0.5	FA4G3S2	0.21
BP-M7	0.69	FA3G3S1	1.42	FA3G2	0.45	FA3G2S2	0.21
M4	0.14	A4G4S1	1.28	A3G3+3KDN	0.45	A1	0.2
BP2-M5	0.04	FA3G3S2	1.25	A4G3S1	0.45	A4G2	0.19
BP2-M6	0.01	FA4G4(1LN)S3	1.1	A2G1S1	0.41	FA4G3	0.19
杂合 N-聚糖	**% 总计**	FA4G4S1	1.08	A3G2	0.4	FA3	0.18
FA1P-M6	2.16	A3G3	1.08	FA4G4S1+LN	0.4	A1G1S1	0.18
M5A1G1S1	1.56	FA4G4S4	1.07	FA3G2S1	0.39	A4G1S1	0.16
FP-M6A1G1S1	0.42	FA3G3S3	1.04	FA2	0.38	FA1G1	0.15
A1M5	0.36	FA4G4S2	0.94	FA4G4S2+LN	0.38	FA3G1	0.14
A1G1M5	0.32	A2G1	0.94	A3G2S2	0.37	FA5G4S2	0.12
P-M6A1G1S1	0.17	FA2G1S1	0.94	A2	0.34	A3G1S1	0.11
发明内容	**总计**	A4G4	0.91	FA4G4(2LN)S3	0.33	A3	0.11
高甘露糖 N-聚糖	38%	FA1G1S1	0.91	FA2G2Sg1	0.32	FA3G3S3+1Ac	0.1
杂合 N-聚糖	5%	FA2G2S2+2Ac	0.76	FA4G4(1LN)S4	0.31	A2G2S1+1Ac	0.09
复合 N-聚糖	57%	A4G4S2	0.69	A3G3S3	0.29	FA3G1S1	0.06

[0339] 基于这种2-AA和LC-MS/MS分析,并且如进一步总结的,测试的ATB200具有平均3-5mol M6P含量/mol ATB200(考虑单-M6P和双-M6P)和4-7mol唾液酸含量/mol ATB200。

[0340] 如图19A-19H和图20B所示,ATB200的第一潜在N-糖基化位点具有约1.4mol M6P/mol ATB200的平均M6P含量,考虑约0.25mol单-M6P/mol ATB200的平均单-M6P含量和约0.56mol双-M6P/mol ATB200的平均双-M6P含量;ATB200的第二潜在N-糖基化位点具有约0.5mol M6P/mol ATB200的平均M6P含量,主要的磷酸化N-聚糖种类是单-M6P N-聚糖;ATB200的第三潜在N-糖基化位点具有约1mol唾液酸/mol ATB200的平均唾液酸含量;ATB200的第四潜在N-糖基化位点具有约1.4mol M6P/mol ATB200的平均M6P含量,考虑约0.35mol单-M6P/mol ATB200的平均单-M6P含量和约0.52mol双-M6P/mol ATB200的平均双-M6P含量;ATB200的第五潜在N-糖基化位点具有约0.86mol唾液酸/mol ATB200的平均唾液酸含量;ATB200的第六潜在N-糖基化位点具有约4.2mol唾液酸/mol ATB200的平均唾液酸含量;以及ATB200的第七潜在N-糖基化位点具有约0.86mol唾液酸/mol ATB200的平均唾液酸含量。

[0341] 同样根据这种2-AA和LC-MS/MS分析技术,ATB200的第一潜在N-糖基化位点处平均约65%的N-聚糖是高甘露糖N-聚糖、ATB200的第二潜在N-糖基化位点处约89%的N-聚糖是

高甘露糖N-聚糖、ATB200的第三潜在N-糖基化位点处一半以上的N-聚糖被唾液酸化(近20％被完全唾液酸化)并且ATB200的第三潜在N-糖基化位点处约85％的N-聚糖是复合N-聚糖、ATB200的第四潜在N-糖基化位点处约84％的N-聚糖是高甘露糖N-聚糖、ATB200的第五潜在N-糖基化位点处约70％的N-聚糖被唾液酸化(约26％被完全唾液酸化)并且ATB200的第五潜在N-糖基化位点处约100％的N-聚糖是复合N-聚糖、ATB200的第六潜在N-糖基化位点处约85％的N-聚糖被唾液酸化(近27％被完全唾液酸化)并且ATB200的第六潜在N-糖基化位点处约98％的N-聚糖是复合N-聚糖,并且ATB200的第七潜在N-糖基化位点处约87％的N-聚糖被唾液酸化(近8％被完全唾液酸化)并且ATB200的第七潜在N-糖基化位点处约100％的N-聚糖是复合N-聚糖。

实例4:ATB200和**MYOZYME®/ LUMIZYME®**的分析比较

[0342] 纯化的ATB200和LUMIZYME®N-聚糖通过MALDI-TOF进行评估,以确定每个ERT上发现的单个N-聚糖结构。LUMIZYME®是从商业来源获得的。如图7所示,ATB200在LUMIZYME®的右侧显示出四个突出的峰洗脱。这证实ATB200比LUMIZYME®的磷酸化程度更大,因为该评估是通过末端电荷而不是CIMPR亲和力进行的。如图8中总结的那样,发现ATB200样品含有比LUMIZYME®更低量的非磷酸化高甘露糖型N-聚糖。

[0343] 为了评估MYOZYME®和LUMIZYME®中的常规rhGAA与CIMPR相互作用的能力,将两种常规rhGAA制剂注射到CIMPR亲和柱(其结合具有M6P基团的rhGAA)上并收集流过物。结合的物质用游离M6梯度洗脱。在96孔板中收集级分,并通过4MU-α-葡糖苷酶底物测定GAA活性。基于GAA活性确定未结合(流过)和结合(M6P洗脱)rhGAA的相对量,并报告为总酶的分数。图9A和9B显示了在MYOZYME®和LUMIZYME®中rhGAA的结合谱:MYOZYME®(图9B)中73％的rhGAA和LUMIZYME®(图9A)中78％的rhGAA不与CIMPR结合。事实上,MYOZYME®中只有27％的rhGAA和LUMIZYME®中只有22％的rhGAA含有可以有效地将其靶向肌肉细胞上的CIMPR的M6P。相比之下,如图5所示,在相同条件下,发现ATB200中超过70％的rhGAA与CIMPR结合。

[0344] 除了具有可以结合CIMPR的更大百分比的rhGAA之外,重要的是理解该相互作用的质量。LUMIZYME®和ATB200受体结合使用CIMPR板结合测定法确定。简言之,使用CIMPR-包被的板来捕获GAA。将不同浓度的rhGAA应用于固定的受体,并且洗去未结合的rhGAA。通过GAA活性来确定剩余rhGAA的量。如图10所示,ATB200与CIMPR的结合明显优于LUMIZYME®。

[0345] 总体而言,ATB200中的M6P N-聚糖含量高于LUMIZYME®,这表明ATB200中较高比例的rhGAA分子可以靶向肌肉细胞。如上所示,由MALDI确定的高百分比单磷酸化和双磷酸化结构与CIMPR谱一致,这表明ATB200与CIMPR受体的结合显著增强。经由MALDI-TOF质谱分析法的N-聚糖分析证实了平均每个ATB200分子包含至少一个中性的双-M6P N-聚糖结构。ATB200上这种较高的双-M6PN-聚糖含量与M6P受体板结合测定中与CIMPR的高亲和力结合直接相关(K_D约2-4nM)。

[0346] 使用正常和庞贝病成纤维细胞系比较ATB200和LUMIZYME®rhGAA的相对细胞摄取。比较涉及根据本披露的5-100nM ATB200与10-500nM常规rhGAA产品LUMIZYME®。16-hr孵育之后,用TRIS碱将外部rhGAA灭活,并且在收获细胞之前用PBS将细胞洗涤3次。通

过4MU-α-葡糖苷水解测量内化的GAA,并相对于总细胞蛋白质作图,结果出现在图11A-11C中。

[0347] ATB200也被证明可以有效地内化到细胞中。如图11A-11B所示,ATB200被内化到正常和庞贝病成纤维细胞中,并且内化的程度高于常规rhGAA产品LUMIZYME®。ATB200在约20nM时使细胞受体饱和,而使细胞受体饱和需要约250nM的LUMIZYME®。从这些结果推断的摄取效率常数($K_{摄取}$)对于ATB200为2-3nm,对于LUMIZYME®为56nM,如图11C所示。这些结果表明ATB200是一种针对庞贝病的靶向治疗药物。

实例5:ATB200和酶稳定剂

[0348] ATB200在酸性或中性pH缓冲液中的稳定性在使用SYPRO Orange的热稳定性测定中评估,因为当蛋白质变性时染料的荧光增加。如图12所示,添加麦格司他以浓度依赖性方式在pH 7.4将ATB200稳定,与ATB200在pH 5.2(模拟溶酶体酸性环境的条件)下的稳定性相当。如表10中总结的,添加麦格司他使ATB200的熔化温度(T_m)增加了将近10℃。

表10.用麦格司他时ATB200的稳定性

测试条件	Tm(℃)
pH 7.4	56.2
pH 7.4+10μM麦格司他	61.6
pH 7.4+30μM麦格司他	62.9
pH 7.4+100μM麦格司他	66.0
pH 5.2	67.3

实例6:Gaa KO小鼠中ATB200和麦格司他的共同施用

[0349] 在Gaa KO小鼠中,评估了ATB200和麦格司他的治疗效果,并与阿葡糖苷酶α的治疗效果进行了比较。在这项研究中,使用了雄性Gaa KO(3至4个月大)和年龄匹配的野生型(WT)小鼠。阿葡糖苷酶α通过推注尾静脉静脉内(IV)注射施用。在共同施用方案中,在IV注射ATB200之前30分钟通过口服强饲法(PO)施用麦格司他。每两周进行治疗。在最后一次施用14天后处死经处理的小鼠,并收集各种组织用于进一步分析。表11总结了研究设计:

表11.共同施用研究设计

基因型	治疗	药物剂量/施用 (每两周)	施用次数
Gaa KO	媒剂	N/A	6
Gaa KO	阿葡糖苷酶 α	20 mg/kg	6
Gaa KO	ATB200/麦格司他	20 mg/kg (ATB200)	6
		10 mg/kg (麦格司他)	
WT (Sve 129)	未处理	N/A	N/A

[0350] 如上所述,使用淀粉葡糖苷酶消化测定组织样品中的组织糖原含量。如图13所示,与相同剂量的阿葡糖苷酶α相比,20mg/kg ATB200和10mg/kg麦格司他的组合显著降低了四种不同组织(股四头肌、三头肌、腓肠肌和心脏)中的糖原含量。

[0351] 还按照以下讨论的方法分析了组织样品的生物标志物变化:Khanna R等人

(2012),“The pharmacological chaperone AT2220 increases recombinant human acid α-glucosidase uptake and glycogen reduction in a mouse model of Pompe disease,[药理学伴侣AT2220增加庞贝病小鼠模型中重组人酸性α-葡糖苷酶的摄取和糖原减少]”Plos One[公共科学图书馆-综合]7(7):e40776;和Khanna,R等人(2014),“The Pharmacological Chaperone AT2220 Increases the Specific Activity and Lysosomal Delivery of Mutant Acidα-Glucosidase,and Promotes Glycogen Reduction in a Transgenic Mouse Model of Pompe Disease[药理学伴侣AT2220增加突变酸性α-葡糖苷酶的比活性和溶酶体递送,并促进庞贝病转基因小鼠模型中的糖原减少]”PLoS ONE[公共科学图书馆-综合]9(7):e102092。如图14所示,与WT相比,在Gaa KO动物的肌纤维中观察到LAMP1阳性囊泡的显著增加和扩大,表明溶酶体增殖。ATB200/麦格司他的共同施用导致更多的LAMP1水平正常的纤维,而剩余的LAMP1阳性囊泡也在尺寸上减小(插图)。

[0352] 同样,未治疗的Gaa KO小鼠的肌肉纤维中强烈的LC3阳性聚集体表明存在自噬区和自噬积聚。与用阿葡糖苷酶α治疗的小鼠相比,在用ATB200/麦格司他共同施用治疗的小鼠中,LC3阳性聚集体(红色)优先减少(图15A)。当使用蛋白质印迹评估LC3的表达时,进行了类似的观察。如图15B所示,用ATB200/麦格司他治疗的大多数动物显示出LC3 II(与自噬体相关的脂化形式)水平的显著降低,表明自噬通量有所改善。相比之下,阿葡糖苷酶α对自噬的影响不大。

[0353] 也评估了戴斯富林蛋白(一种参与膜修复的蛋白质,其缺陷/错误运输与许多肌营养不良症有关)。如图16所示,戴斯富林蛋白(棕色)大量积聚在Gaa KO小鼠的肌浆中。与阿葡糖苷酶α相比,ATB200/麦格司他能够将戴斯富林蛋白恢复到更多肌纤维中的肌膜。

[0354] 这些数据与接受ATB200和麦格司他治疗的人类庞贝病患者所显示出的细胞水平改善一致(例如,患者表现出糖原累积和肌肉损伤的生物标志物水平降低),这不仅能有效治疗庞贝病,还能逆转疾病进展。人庞贝病患者的临床数据总结于下文的实例8和9中。

实例7:单纤维分析

[0355] 如图17所示,大多数经媒剂治疗的小鼠显示溶酶体明显增大(参见,例如“B”)和大量自噬积聚的存在(参见,例如“A”)。经MYOZYME®治疗的小鼠与经媒剂治疗的小鼠相比未显示出任何显著差异。相比之下,从用ATB200治疗的小鼠中分离出的大多数纤维显示溶酶体大小显著减小(参见,例如,“C”)。此外,具有自噬积聚的区域也有不同程度的减少(例如,参见“C”)。结果,从经ATB200治疗的小鼠中分析的很大一部分肌肉纤维(36-60%)看起来正常或接近正常。下面的表12总结了图17中所示的单纤维分析。

表12.单纤维分析

治疗	分析的动物	分析的纤维总数（n）	溶酶体增大	具有自噬积聚的纤维	外观正常或接近正常的纤维
WT	2	65	-	-	100%
媒剂	2	65	+	>90%	<10%
阿葡糖苷酶α	4	150	+	>90%	<10%
ATB200	5	188	大多数纤维的尺寸大幅减小	40-64%*	36-60%

*这包括自噬积聚程度不同的纤维。总体而言,与媒剂或阿葡糖苷酶α治疗组相比,ATB200治疗组的积聚程度更小。

[0356] 在图78所示的另一项研究中,与用阿葡糖苷酶α(20mg/kg)治疗的小鼠相比,对Gaa KO小鼠进行12次两周一次的ATB200(20mg/kg)推注给药显示出肌纤维大小的显著改善,这可从股四头肌的组织切片中定量。与庞贝病患者一样,Gaa小鼠由于肌肉萎缩而显示肌纤维大小减少。经ATB200治疗的小鼠与经阿葡糖苷酶α治疗的小鼠相比,平均最小Feret直径明显更大,这表明功效存在明显的功能差异。

[0357] 总体而言,数据表明,具有较高M6P含量的ATB200,无论是单独使用还是在血液中性pH下通过酶稳定剂麦格司他进一步稳定,当施用于Gaa KO小鼠时,与阿葡糖苷酶α相比,在组织靶向和溶酶体转运方面更有效,这与图18中描绘的麦格司他对ATB200的稳定作用一致。因此,ATB200的施用和ATB200/麦格司他的共同施用比阿葡糖苷酶α更有效地纠正了一些与疾病相关的病理,例如糖原累积、溶酶体增殖和自噬区的形成。由于这些积极的治疗效果,ATB200的施用和ATB200/麦格司他的共同施用显示出提高肌纤维从损伤中恢复的机会,甚至通过清除由于缺乏最佳GAA活性而在细胞中积累的糖原来逆转损伤。与实例6一样,这些数据也与在人庞贝病患者中证实的细胞水平的改善相一致,所述改善导致在施用ATB200和麦格司他后庞贝病的有效治疗和疾病进展的逆转。人庞贝病患者的临床数据总结于下文的实例8和9中。

实例8:ATB200-02试验

[0358] 进行了一项1/2期(ATB200-02,NCT-02675465)开放标签、固定顺序、递增剂量临床研究,以评估患有庞贝病的成人受试者中IV输注ATB200和麦格司他的安全性、耐受性、药代动力学、药效学和中期功效。数据在国际公开号WO 2020/163480(其披露内容通过引用并入本文)中报告。

实例9:ATB200-03试验:ATB200/麦格司他在庞贝病患者中的3期人体研究

[0359] ATB200-03试验是一项针对患有迟发性庞贝病(LOPD)的成人受试者中ATB200/麦格司他与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比的3期双盲、随机、多中心、国际研究,所述成人受试者曾接受过阿葡糖苷酶α酶替代疗法(即,经历过ERT)或从未接受过ERT(即,ERT初治)。

研究设计

[0360] 如图21所示,试验包括长达30天的筛选期、12个月的治疗期和30天的安全随访期。符合条件的受试者以2:1的比例随机分配接受ATB200/麦格司他或阿葡糖苷酶α/安慰剂,并按ERT状态(经历过ERT、ERT初治)和基线6分钟步行距离(6MWD)(75至<150米,150至<400米,≥400米)进行分层。

[0361] 功效评估(即功能评估)包括动态功能评估(6MWT)、运动功能测试(步态、楼梯、高尔斯和椅子动作(GSGC)测试和计时起立行走(TUG)测试)、肌肉力量(徒手肌力测试和定量肌肉测试)和肺功能测试(FVC、SVC、MIP、MEP和SNIP)。记录了患者报告结果(拉施(Rasch)建立的庞贝氏-比活性(R Pact)量表、EuroQol 5维度5水平仪器(EQ-5D-5L)、针对身体功能、疲劳、呼吸困难和上肢的患者报告结果测量信息系统(PROMIS®)仪器,以及受试者对变化的总体印象)。还进行了医师对变化的总体印象。

[0362] 药效学评估包括测量肌肉损伤的生物标志物(肌酸激酶(CK)和疾病底物(尿己糖四糖(Hex4))。收集稀疏血液样品用于确定血浆中的总GAA蛋白水平和麦格司他浓度,用于ERT经验受试者中的群体PK分析。在ERT初治受试者中进行系列血液采样以表征总GAA蛋白和麦格司他的PK谱。

[0363] 安全性评估包括监测不良事件(AE),包括输注相关反应(IAR)、临床实验室测试(化学、血液学和尿液分析)、生命体征、包括体重在内的身体检查、心电图(ECG)和免疫原性。还记录了合并用药和非药物治疗。

受试者选择

[0364] 参与研究的受试者符合以下所有纳入标准,但不符合任何排除标准。总共有122名受试者参加了ATB200-03试验。其中,85名受试者(经历过ERT的:65名;ERT初治的:20名)接受了ATB200/麦格司他治疗,37名受试者(经历过ERT的:30名;ERT初治的:7名)接受阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗。如图22所示,基线6MWD和FVC数据具有群体代表性,并且在两个治疗组中总体相似。

[0365] 纳入标准:

1.在执行任何与研究相关的程序之前,受试者提供了签署的知情同意书。

2.筛选时男性和女性受试者年龄≥18岁且体重≥40kg。

3.有生育能力的女性受试者和男性受试者同意在研究期间和最后一剂研究药物后的90天内使用医学上可接受的避孕方法。

4.受试者根据以下其中一项文件被诊断为LOPD:

a.GAA酶缺乏症

b.GAA基因分型

5.受试者被归类为以下ERT状态之一:

a.经历过ERT,定义为已接受推荐剂量和方案(即每2周20mg/kg剂量)的标准护理ERT(阿葡糖苷酶α)≥24个月

•特定于澳大利亚,经历过ERT,定义为已接受标准护理ERT(阿葡糖苷酶α)推荐剂量和方案,每2周一次20mg/kg剂量(基于瘦体重或理想体重)

b.ERT初治,定义为从未接受过研究性或商购ERT

6.受试者在筛选时的坐姿FVC≥健康成人预测值的30%(国家健康和营养检查调查III)。

7.受试者在筛选时进行了两次有效的6MWT,由临床评估员确定,并且符合以下所有标准:

a.6MWD的两个筛选值都≥75米

b.6MWD的两个筛选值都≤健康成人预测值的90%

c.6MWD的下限值在6MWD的上限值的20％以内

[0366] 排除标准：

1.受试者在疗法或治疗的30天或5个半衰期内(以较长者为准)在第1天之前或预期在研究期间接受过除阿葡糖苷酶α之外的任何针对庞贝病的研究性疗法或药物治疗。

2.受试者接受过庞贝病的基因疗法。

3.受试者在第1天之前的30天内使用了以下任何违禁药物：

• 米格列醇

• 麦格司他

• 阿卡波糖

• 伏格列波糖

4.受试者需要在清醒时每天使用有创或无创通气支持>6小时。

5.受试者对ATB200、阿葡糖苷酶α或麦格司他中的任何赋形剂过敏。

6.受试者有医疗状况或任何其他情有可原的情况，在调查员或医疗监督员看来，对受试者造成不当的安全风险或损害他/她遵守或不利影响方案要求的能力。这包括症状不受控制或控制不佳的临床抑郁症(由精神病医生或其他心理健康专家诊断)。

7.受试者，如果是女性，则在筛选时怀孕或哺乳。

8.受试者，无论是男性还是女性，都计划在研究期间怀孕。

9.受试者拒绝接受基因检测。

研究产品、剂量和施用方式

[0367] 受试者以至少2:1的随机化比例被随机分配接受ATB200/麦格司他或阿葡糖苷酶α/安慰剂。下表13总结了入组受试者的治疗。

表13.治疗指定和方案

治疗指定	治疗	方案
ATB200/麦格司他	麦格司他[a]	受试者 ≥50 kg：每 2 周 ATB200 输注前 1 小时 260 mg（4 × 65 mg 口服胶囊） 受试者 ≥40 kg 至 <50 kg：每 2 周 ATB200 输注前 1 小时 195 mg（3 × 65 mg 口服胶囊）
	ATB200	每 2 周 20 mg/kg IV 输注 4 小时
阿葡糖苷酶 α/安慰剂	安慰剂	受试者 ≥50 kg：安慰剂（4 粒口服胶囊），每 2 周输注一次阿葡糖苷酶 α 前 1 小时 受试者 ≥40 kg 至 <50 kg：安慰剂（3 粒口服胶囊），每 2 周输注一次阿葡糖苷酶 α 前 1 小时
	阿葡糖苷酶 α	每 2 周 20 mg/kg IV 输注 4 小时

缩写：IV＝静脉内

[a]注：要求受试者在施用麦格司他或安慰剂前至少2小时禁食和施用安慰剂后2小时禁食。

数据评估和统计考虑

[0368] 主要功效终点是6MWD从基线到第52周的变化。主要终点测试了ATB200/麦格司他相对于阿葡糖苷酶α/安慰剂的优越性,使用重复测量的混合效应模型(MMRM)和预先指定的非参数测试以防违反正态性。

[0369] 按照预先指定的重要性等级顺序排列的关键次要功效终点如下。这些次要终点使用协方差分析(ANCOVA)模型与末次观察推进法(ITT LOCF)进行分析。

- 坐姿FVC从基线到第52周的变化(%预测)
- 下肢徒手肌力测试得分从基线到第52周的变化
- PROMIS总得分从基线到第52周的变化-身体功能
- PROMIS总得分从基线到第52周的变化-疲劳
- GSGC总得分从基线到第52周的变化

[0370] 其他次要功效终点如下:

- 以下与运动功能相关的变量从基线到第52周的变化:

-完成GSGC测试的10米步行(即步态评估)的时间
-完成GSGC测试爬4级楼梯的时间
-完成GSGC测试高尔斯动作的时间
-作为GSGC测试的一部分,从椅子上站起来的时间
-完成TUG测试的时间

- 以下与肌肉力量相关的变量从基线到第52周的变化:

-上肢徒手肌力测试得分
-徒手肌力测试总得分
-上肢肌肉定量测试值(kg)
-下肢定量肌肉测试值(kg)
-定量肌肉测试总值(kg)

- 患者报告的结果测量的以下变量从基线到第52周的变化:

-PROMIS总得分-呼吸困难
-PROMIS总得分-上肢
-R-PAct量表总得分
-EQ-5D-5L健康状况

- 受试者在第52周时与研究药物在以下生活领域的影响相关的功能状态(改善、稳定或下降)的实际值,如通过受试者对变化的总体印象来衡量

-总体身体健康
-呼吸的力度
-肌肉力量
-肌肉功能
-四处走动的能力
-日常生活活动
-能量水平
-肌肉疼痛程度

- 受试者在第52周的功能状态(改善、稳定或下降)的实际值,如通过医生对变化

的总体印象来衡量

• 以下肺功能测量值从基线到第52周的变化,如下:

-坐姿FVC(%预测)

-MIP(cmH2O)

-MIP(%预测)

-MEP(cmH2O)

-MEP(%预测)

-SNIP(cmH2O)

[0371] 药效学终点如下:

• 血清CK水平从基线到第52周的变化

• 尿Hex4水平从基线到第52周的变化

[0372] 对于经历过ERT的受试者,收集了来自总GAA蛋白水平和麦格司他浓度的群体PK分析的药代动力学终点。对于ERT初治受试者,计算了血浆总GAA蛋白浓度和麦格司他的PK参数。

[0373] ATB200/麦格司他的安全性谱使用以下进行表征:治疗中出现的不良事件(TEAE)、严重不良事件(SAE)和导致研究药物停用的AE、立即和晚期IAR的频率和严重程度以及其他安全性评估中发现的任何异常。还评估了ATB200和阿葡糖苷酶α的免疫原性对安全性和功效的影响。

[0374] 统计方法包括以下关于样品随机化、样品量计算、功效分析和安全性分析的考虑。

[0375] 随机化。以下两个因素被确定为设计分层变量:1.基线6MWD(75至<150米,150至<400米,≥400米);和2.ERT状态(经历过ERT,ERT初治)。这两个因素形成了六个因子组合(即水平、层次)。使用集中的区组随机化程序来平衡上述风险因素,1)减少偏差并提高统计推断的精度,以及2)允许进行各种计划内和计划外的子集分析。对6个层次中的每个层次执行区组随机化方案。随机化比率为2:1ATB200/麦格司他比阿葡糖苷酶α/安慰剂,固定。

[0376] 样品量计算。2侧显著性水平为0.05和2:1随机化方案的2组t检验(ATB200/麦格司他组中有66名受试者,阿葡糖苷酶α/安慰剂组中有33名受试者,总样品量为99名受试者)被确定为具有大约90%的功效,以在优势检验中检测两组间0.7的标准化效应量。该计算是使用Nquery8©®执行的。假设退出率为10%,则样品量约为110名受试者。

[0377] 功效分析。使用协方差参数分析(ANCOVA)模型分析主要功效终点(即6MWD从基线到第52周的变化),以比较新治疗和对照。该模型通常会针对基线6MWD(作为连续协变量)和用于对随机化进行分层的2个因素进行调整:ERT状态(ERT初治与经历过ERT)和基线6MWD(75至<150米,150至<400米,≥400米)。然而,由于它们之间预期的高点双序列相关性,基线6MWD不能在模型中使用两次(作为连续变量和分类变量)。因此,6MWD连续变量保留在模型中,但删除了分类6MWD。然后,ANCOVA模型具有以下项:治疗、基线6MWD(连续)和ERT状态(分类)。

[0378] 此外,检查了潜在的治疗协变量相互作用(即,ERT状态下的治疗和基线6MWD连续治疗)。如果相互作用项具有统计显著性(例如,$p<0.10$,2边),并且存在合乎逻辑的生物学解释,则相互作用项可能会添加到最终的ANCOVA模型中,用于主要终点分析。然后根据ANCOVA模型和所有相关估计(例如,每个治疗组的LS均值、LS均值差、LS均值差的95%置信

区间(CI))对数据进行分析并且提供两个治疗组之间比较的p值。

[0379] 为了支持对临床获益的解释,根据治疗结果数据的整体定义了复合受试者水平应答。根据治疗结果,根据由显著改善、中等改善或轻微/无改善组成的有序应答变量对受试者进行分类。

[0380] 关键次要终点按照层级顺序进行分析,采用逐步封闭测试程序控制I类错误率。使用与主要终点分析类似的方法分别分析关键的次要终点和其他次要终点。

[0381] 安全性分析。使用分类数据的计数和百分比和连续数据的描述性统计(平均值、标准偏差、中位数、最小值、最大值)总结安全性数据。

ATB200-03试验的功效结果

[0382] 在总体群体中,第52周相对于基线(图23A)和随时间的推移(图23B),ATB200/麦格司他治疗显示出6MWD的改善和预测FVC百分比的稳定。与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比,ATB200/麦格司他治疗显示第52周时总体群体的6MWD有更大改善(图23A)。此外,如图23A所示,与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比,ATB200/麦格司他治疗显示在第52周时总体群体中预测FVC百分比有临床显著改善。

[0383] 在经历过ERT的群体中,第52周相对于基线(图24),ATB200/麦格司他治疗显示出6MWD的改善和预测FVC百分比的稳定。与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比,在经历过ERT的群体中ATB200/麦格司他治疗显示6MWD随着时间的推移得到改善,并且预测FVC百分比随着时间的推移而稳定(图25)。此外,如图24所示,与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比,在经历过ERT的群体中ATB200/麦格司他治疗显示在第52周时6MWD和预测FVC百分比均有临床显著改善。

[0384] 如图26A和26B所示,在较小的ERT初治群体(n=27)中,第52周相对于基线(图26A)和随时间的推移(图26B),ATB200/麦格司他治疗显示出6MWD的改善和预测FVC百分比的稳定。两个治疗组之间的差异更大,并且在6MWD或预测FVC百分比方面未观察到临床显著改善(图26A)。

[0385] 如图28所示,在经历过ERT的总体群体中,与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比,下肢MMT在数值上有利于ATB200/麦格司他治疗。

[0386] 从基线到第52周,下肢MMT得分的平均变化(SD)显示,与接受阿葡糖苷酶α和安慰剂治疗的受试者的改善数值0.9(2.58)相比,共同施用西帕葡糖苷酶α和麦格司他的受试者数值改善了1.6(3.78)(p=0.191)。

[0387] 如图29所示,在总体群体和经历过ERT的群体中,与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比,ATB200/麦格司他治疗显示GSGC在第52周有临床显著改善。

[0388] 总GSGC得分从基线到第52周的平均变化显示,与接受阿葡糖苷酶α和安慰剂治疗的受试者的改善0.77(1.8)相比,共同施用西帕葡糖苷酶α和麦格司他的受试者改善了-0.53(2.5)(p=0.009)。

[0389] 如图30所示,在总体群体和经历过ERT的群体中,与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比,PROMIS身体功能在数值上有利于ATB200/麦格司他治疗。

[0390] 如图31所示,在总体群体和经历过ERT的群体中,两个治疗组之间的PROMIS疲劳改善相似。

[0391] ATB200-03试验的生物标志物结果

[0392] 在总体群体和经历过ERT的群体中,ATB200/麦格司他治疗显示肌肉损伤(CK)和疾

病底物(Hex4)的生物标志物随时间推移有所改善(图32和33)。此外,如图32和33所示,在总体群体和经历过ERT的群体中,与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比,在第52周时,用ATB200/麦格司他治疗的CK和尿Hex4的降低显著更大。

[0393] 在经历过ERT的患者中,ATB200/麦格司他治疗和阿葡糖苷酶α安慰剂治疗的基线平均尿Glc4浓度分别为4.6mmol/mol和7.2mmol/mol。在第52周,ATB200/麦格司他治疗组和阿葡糖苷酶α安慰剂治疗组的平均尿Glc4浓度分别为2.9mmol/mol和9.1mmol/mol。

[0394] 如图34中总结的那样,在总体群体和经历过ERT的群体中,运动功能、肺功能、肌肉力量、患者报告结果(PRO)和生物标志物的终点始终支持ATB200/麦格司他治疗优于阿葡糖苷酶α/安慰剂。此外,在评估的17项功效和生物标志物终点中,有16项支持ATB200/麦格司他治疗优于阿葡糖苷酶α/安慰剂。

[0395] ATB200-03试验的安全性结果

[0396] 如图35所示,ATB200/麦格司他治疗组的总体安全性与阿葡糖苷酶α/安慰剂组相似。

[0397] 图36-图40描述了ATB200-03试验的其他方面。

实例10:PROPEL 3期临床试验结果

[0398] 与关键的3期PROPEL研究中的标准护理相比,AT-GAA在迟发性庞贝病的肌肉骨骼和呼吸测量方面显示出具有临床意义和显著的改善。PROPEL也称为“ATB200-03”,参见实例9。

[0399] 从批准的标准护理ERT(阿葡糖苷酶α)转换为AT-GAA的患者平均多走17米(p=0.046)。

[0400] 转换为AT-GAA的患者的预测用力肺活量(FVC)百分比也有所改善,FVC是庞贝病呼吸功能最重要的量度,相比之下,接受阿葡糖苷酶α治疗的患者则出现衰退(FVC Diff.4.1%;p=0.006)。

[0401] 与接受阿葡糖苷酶α治疗的患者相比,AT-GAA在FVC的第一个关键次要终点方面显示出名义上具有统计学显著性和临床意义的优势差异(FVC Diff.3.0%;p=0.023)。

[0402] 在ERT转换和ERT初治患者的联合研究群体中,AT-GAA在主要终点上比阿葡糖苷酶α高出14米(21米比7米),并且在优势上没有统计学显著(p=0.072)。

[0403] 与阿葡糖苷酶α相比,合并研究群体中庞贝病的两个重要生物标志物(Hex-4和CK)的改善显著有利于AT-GAA(p<0.001)。

[0404] PROPEL是一项为期52周的双盲随机全球研究,旨在评估AT-GAA与当前标准护理阿葡糖苷酶α(一种酶替代疗法(ERT))相比的功效、安全性和耐受性。该研究招募了123名成年庞贝病患者,他们在没有机械通气的情况下仍然能够行走和呼吸,并在5大洲24个国家的62个临床站点进行。这是有史以来针对溶酶体障碍进行的最大规模的对照临床研究。

[0405] 参加PROPEL的患者按2:1随机分配,因此每两名随机接受AT-GAA治疗的患者,就有一名随机接受阿葡糖苷酶α治疗。在参加PROPEL的庞贝病患者中,77%的患者在参加前即刻接受了阿葡糖苷酶α(n=95)治疗,23%的患者从未接受过任何ERT治疗(n=28)。117名患者完成了PROPEL研究,所有117名患者都自愿参加了长期扩展研究,并且现在仅接受AT-GAA治疗他们的庞贝病。

合并的ERT转换和ERT初治研究群体中的6分钟步行距离(6MWD)和预测用力肺活量

百分比(FVC)的预先指定分析：

[0406] 该研究的主要终点是合并的ERT转换和ERT初治患者群体中52周时6分钟步行距离的平均变化与基线测量值相比。在该合并群体中,使用AT-GAA的患者(n＝85)在52周时平均多走21米,而接受阿葡糖苷酶α治疗的患者(n＝37)平均多走7米(表14)。合并群体中的这个主要终点被评估为优势,虽然数值更大,但与阿葡糖苷酶α组相比,AT-GAA组在该合并群体中的优势没有达到统计显著性(p＝0.072)。

[0407] 根据统计分析计划的层次结构,该研究的第一个关键次要终点是合并群体在52周时预测FVC百分比的平均变化。在这个合并群体中,使用AT-GAA的患者与接受阿葡糖苷酶α治疗的患者相比,表现出名义上具有统计学显著性和临床意义的优势差异。52周后,AT-GAA显著减缓了患者呼吸衰退的速度。用AT-GAA治疗的患者显示预测FVC百分比绝对衰退0.9%,而阿葡糖苷酶α组的绝对衰退为4.0%(p＝0.023)(表15)。预测的FVC百分比是庞贝病中呼吸肌功能最重要的衡量指标,也是阿葡糖苷酶α获批的基础。

表14.总体ERT转换和ERT初治研究群体中的6MWD(m)

治疗	基线	第 52 周的 CFBL	差异	P 值
AT-GAA（n＝85）	357.9 (111.8)	+20.8 （4.6）	+13.6 (8.3)	p = 0.072
阿葡糖苷酶 α（n＝37）	351.0 (121.3)	+7.2 （6.6）		

表15.总体ERT转换和ERT初治研究群体中的FVC(%预测)

治疗	基线	第 52 周的 CFBL	差异	P 值
AT-GAA（n＝85）	70.7 (19.6)	-0.9 （0.7）	+3.0 （1.2）	p = 0.023
阿葡糖苷酶 α（n＝37）	69.7 (21.5)	-4.0 （0.8）		

ERT转换研究群体(n＝95)中的6分钟步行距离(6MWD)和预测用力肺活量百分比(FVC)的预先指定分析：

[0408] PROPEL转换患者进入研究时已经接受了至少两年的阿葡糖苷酶α治疗。在进入PROPEL研究之前,超过三分之二(67%+)的患者已经接受ERT治疗超过五年(平均7.4年)。

[0409] 对自阿葡糖苷酶α转换的患者进行的6分钟步行距离预设分析表明,在转换后52周,AT-GAA治疗的患者(n＝65)的步行距离比基线远16.9米,相比之下,那些被随机分配继续使用阿葡糖苷酶α的患者(n＝30)为0.0米(p＝0.046)(表16)。

[0410] 对自阿葡糖苷酶α转换的患者进行的预测FVC百分比预设分析表明,AT-GAA治疗的患者在这一重要量度上的呼吸功能趋于稳定并略有改善,而那些继续使用阿葡糖苷酶α的患者呼吸肌功能继续显著衰退。AT-GAA患者显示出预测FVC百分比的0.1%绝对增加,而阿葡糖苷酶α患者在这一年中显示出4.0%的绝对衰退(p＝0.006)(表17)。

表16.ERT转换研究群体中的6MWD(米)

治疗	基线	第 52 周的 CFBL	差异	P 值
AT-GAA（n＝65）	346.9 (110.2)	+16.9 (5.0)	+16.9 (8.8)	p = 0.046
阿葡糖苷酶 α(n＝30)	334.6 (114.0)	0.0 (7.2)		

表17.ERT转换研究群体中的FVC(%预测)

治疗	基线	第 52 周的 CFBL	差异	P 值
AT-GAA (n = 65)	67.9 (19.1)	+0.1 (0.7)	+4.1 (1.2)	p = 0.006
阿葡糖苷酶 α (n = 30)	67.5 (21.0)	-4.0 (0.9)		

ERT治疗初治群体(n＝28)中的6分钟步行距离(6MWD)和预测用力肺活量百分比(FVC)的预先指定分析:

[0411] 对以前从未接受过任何ERT治疗的患者的6分钟步行距离的预先指定分析表明,在52周后,接受AT-GAA治疗的患者(n＝20)比基线多走了33米。阿葡糖苷酶α治疗的患者(n＝7)比他们的基线多走了38米。两组之间的差异没有统计学显著性(p＝0.60)(表18)。

[0412] 对之前从未接受过任何ERT治疗的患者进行的预设分析显示,在52周时,预测用力肺活量(FVC)百分比出现类似地衰退,对于AT-GAA治疗的患者为-4.1%,而对于阿葡糖苷酶α治疗的患者为-3.6%(表19)。两组之间的差异无统计学显著性(p＝0.57)。

表18.ERT初治群体中的6MWD(米)

治疗	基线	第 52 周的 CFBL	差异	P 值
AT-GAA (n = 20)	393.6 (112.4)	+33.4 (10.9)	-4.9 (19.7)	p = 0.60
阿葡糖苷酶 α(n = 7)	420.9 (135.7)	+38.3 (11.1)		

表19.ERT初治群体中的FVC(%预测)

治疗	基线	第 52 周的 CFBL	差异	P 值
AT-GAA (n = 20)	80.2 (18.7)	-4.1 (1.5)	-0.5 (2.7)	p = 0.57
阿葡糖苷酶 α (n = 7)	79.1 (22.6)	-3.6 (1.8)		

注意:阿葡糖苷酶α组的一名患者被排除在研究分析之外,因为使用了一种研究性合成代谢类固醇,影响了他的基线表现。

总体ERT转换和ERT初治研究群体的其他关键次要和生物标志物终点的预先指定分析:

[0413] 肌肉骨骼和其他关键次要终点:

[0414] GSGC(步态、楼梯、高尔斯):GSGC是庞贝病中一个重要且常用的终点,用于捕捉力量、协调性和活动性。在总体群体中,在这一重要评估中,接受AT-GAA治疗的患者在得分上表现出统计学上的显著改善,相比之下,接受阿葡糖苷酶α治疗的患者则有所恶化(p<0.05)。

[0415] 下肢MMT(徒手肌力测试),PROMIS身体功能:在这两种经过验证的肌肉力量测量和患者报告的结果中,AT-GAA治疗的患者在数值上比阿葡糖苷酶α治疗的患者改善更多,尽管结果没有统计学显著性。

[0416] PROMIS疲劳:通过该量表测量的疲劳比阿葡糖苷酶α治疗的患者略有利于AT-GAA治疗的患者。

疾病治疗效果的生物标志物:

[0417] 尿Hex-4:对于ERT转换患者和ERT初治患者的组合研究群体,那些接受AT-GAA的患

者在该生物标志物方面表现出显著改善,52周后Hex-4平均减少-31.5%,相比之下,阿葡糖苷酶α治疗的患者的Hex-4增加了+11.0%(即,恶化)(p=<0.001)。尿Hex-4是庞贝病的常见生物标志物,可用作接受ERT的庞贝病患者骨骼糖原清除程度的间接量度。糖原是在庞贝病患者肌肉溶酶体中积累的底物。

[0418] CK(肌酸激酶):52周后,接受AT-GAA治疗的患者在该生物标志物方面也有显著改善,-22.4%的CK平均降低,相比之下,接受阿葡糖苷酶α治疗的患者则+15.6%的增加(即恶化)。(p<0.001)。CK是一种酶,会从受损的肌肉细胞中渗漏出来,并在庞贝病患者中升高。

[0419] AT-GAA显示出与阿葡糖苷酶α相似的安全性谱。接受AT-GAA治疗的两名患者(2.4%)因不良事件而停止治疗,相比之下接受阿葡糖苷酶α治疗的一名患者(2.6%)停止治疗,与治疗无关。25%的AT-GAA参与者和26%的阿葡糖苷酶α患者报告了注射相关反应(IAR)。

事后亚组分析:

[0420] 基线6MWD和FVC类别:ERT初治群体(n=27):三名患者的基线6MWD<300m,三名患者的基线FVC<55%;由于患者数量较少,因此未在这些亚组中进行CFBL分析。基线6MWD≥300米:随着时间的推移,西帕葡糖苷酶α/麦格司他(AT-GAA)组(n=18)和阿葡糖苷酶α/安慰剂组(n=6)组都有类似的改善(到第52周的平均[SE]CFBL分别为:+34.4[12.1]m和+30.8[9.6]m)。基线FVC≥55%:西帕葡糖苷酶α/麦格司他(n=19)和阿葡糖苷酶α/安慰剂(n=5)组均随时间衰退(平均[SE]CFBL至第52周:分别为-3.7[1.5]%和-3.3[2.6]%)。如图41所示,在基线6MWD<300m和≥300m,FVC<55%和≥55%的患者中,总体群体和经历过ERT的群体的结果始终有利于西帕葡糖苷酶α/麦格司他。

[0421] 在包括ERT初治患者和经历过ERT的患者在内的总体研究群体中,与批准的ERT相比,西帕葡糖苷酶α/麦格司他在运动和呼吸功能方面表现出积极趋势或有临床意义的改善,无论基线6MWD和%FVC评估如何,并且在预设亚组分析和事后亚组分析中均如此表现。

[0422] 西帕葡糖苷酶α/麦格司他表现出与阿葡糖苷酶α/安慰剂相似的安全性谱(图42)。

关于AT-GAA

[0423] AT-GAA是一种研究性双组分疗法,由西帕葡糖苷酶α(ATB200)组成,所述西帕葡糖苷酶α是一种独特的重组人酸性α-葡糖苷酶(rhGAA)酶,具有优化的碳水化合物结构,特别是双磷酸化甘露糖-6磷酸(双-M6P)聚糖,用于增强细胞的摄取,其与麦格司他(AT2221)联合施用,所述麦格司他是西帕葡糖苷酶α的稳定剂。在临床前研究中,AT-GAA与成熟溶酶体形式GAA水平的升高和肌肉中糖原水平的降低、自噬缺陷的缓解和肌肉力量的改善有关。

关于庞贝病

[0424] 庞贝病是一种由酸性α-葡糖苷酶(GAA)缺乏引起的遗传性溶酶体障碍。GAA水平的降低或缺失导致细胞中糖原的累积,据信这会导致庞贝病的临床表现。这种疾病可能会使人衰弱,其特征是严重的肌肉无力会随着时间的推移而恶化。庞贝病的范围从对心脏功能有重大影响的迅速致命的婴儿形式到主要影响骨骼肌的更缓慢进展的迟发形式。据估计,庞贝病影响全球约5,000至10,000人。

实例11:开放标签I/II期研究(ATB200-02)的结果

[0425] ATB200-02(NCT02675465)是一项开放标签、I/II期临床试验,其旨在评估西帕葡糖苷酶α/麦格司他在成人庞贝病患者中的安全性、耐受性、药代动力学、药效学和功效。西

帕葡糖苷酶α/麦格司他是一种研究性双组分疗法,用于治疗迟发性庞贝病(LOPD),包括静脉内施用西帕葡糖苷酶α(rhGAA)和口服麦格司他(酶稳定剂)。

[0426] 图43显示了I/II期ATB200-02研究的研究设计。该研究在5个国家/地区的16个中心进行。ATB200-02研究纳入了四组庞贝病患者:

• 队列1:经历过ERT,年龄在18-65岁,有2-6年的先前ERT,每2周使用20mg/kg阿葡糖苷酶α(n=11)

• 队列2:不能行走,经历过ERT,年龄在18-65岁,有≥2年的先前ERT,每2周使用20mg/kg阿葡糖苷酶α(n=6)

• 队列3:ERT初治,年龄在18-65岁(n=6)

• 队列4:经历过ERT,年龄在18-75岁,有≥7年的先前ERT,每2周使用20mg/kg阿葡糖苷酶α(n=6)

[0427] 符合条件的能行走患者的6分钟步行距离(6MWD)至少为200米(队列1和队列3)或75米(队列4),直立用力肺活量(FVC)为预计正常值的30-80%。

[0428] 定期评估6MWD、预测坐姿FVC%、徒手肌力测试(MMT)和生物标志物—尿葡萄糖四糖(Hex4)和血清肌酸激酶(CK)相对于基线(CFBL)的变化。本文提供了对经历过ERT的患者和ERT初治患者长达36个月的随访数据。图44显示了报告的终点和队列的总结。图45显示基线特征和患者处置。由于患者入组的时间错开,在这项正在进行的研究中,当前可用数据的患者数量会在稍后的时间点减少。

[0429] 经历过ERT的患者在6MWD中表现出从基线到48个月的持久平均改善。在12个月、24个月、36个月和48个月的随访之后,分别有13/16、9/13、6/12和6/9的经历过ERT的患者的6MWD从基线数值上有所改善(图46A)。到第12个月平均增加33米(m),到第24个月增加25m,到第36个月增加9m,到第48个月增加20m。

[0430] 对于经历过ERT的患者,FVC相对于基线的变化(CFBL)通常在长达48个月的随访中保持稳定。12、24、36和48个月的随访之后,分别在9/16、11/13、8/10和4/6名患者(图47A)中FVC相对于基线水平改善(>3%)或保持稳定(±3%)。到第12个月的平均变化为-1.2%,到第24个月为+1.0%,到第36个月为-0.3%,到第48个月为+1.0%。

[0431] 在经历过ERT的患者中,MMT下肢得分相对于基线的平均变化在数值上有所改善,并且改善维持长达48个月的随访(图48A)。在12、24、36和48个月的随访后,分别有14/15、11/13、10/10和8/8的能行走患者的MMT下肢得分相对于基线有所改善。到第12个月平均增加3.1分,到第24个月增加2.1分,到第36个月增加2.5分,到第48个月增加3.5分。

[0432] ERT初治患者在6MWD中表现出从基线到48个月的持久平均改善。在12、24、36和48个月的随访之后,分别有6/6、6/6、4/5和4/4的ERT初治患者的6MWD相对于基线数值上有所改善(图46B)。到第12个月平均增加57米,到第24个月增加54米,到第36个月增加43米,到第48个月增加52米。

[0433] 在ERT初治患者中,FVC中的平均CFBL在长达48个月的随访中相对于基线有所改善。12、24、36和48个月的随访之后,分别在5/6、6/6、5/5和4/4名患者(图47B)中FVC相对于基线水平改善(>3%)或保持稳定(±3%)。如图47B中的星号所示,ERT初治队列中的一名患者在第21个月时预测FVC%大幅下降,在下次就诊时(第24个月)恢复到之前的水平。到第12个月的平均变化为3.2%,到第24个月为4.7%,到第36个月为6.2%,到第48个月为8.3%。

[0434] 在ERT初治患者中,MMT下肢得分相对于基线的平均变化在数值上有所改善,并且改善维持长达48个月的随访(图48B)。在12、24、36和48个月的随访后,分别有4/5、4/5、4/4和3/4的能行走患者的MMT下肢得分相对于基线有所改善。到第12个月平均增加2.8分,到第24个月增加3.0分,到第36个月增加3.3分,到第48个月增加1.0分。

[0435] 在48个月的随访期间,西帕葡糖苷酶α/麦格司他通常与尿Hex4相对于基线的平均减少有关,在ERT初治患者中减少更多。在12、24、36和48个月的随访后,Hex4水平分别在16/16、11/14、11/12和6/9的经历过ERT的患者中以及5/6、5/6、4/5和4/5的ERT初治患者中在数值上相对于基线降低(图49A)。

[0436] 在48个月的随访期间,西帕葡糖苷酶α/麦格司他与血浆CK的稳定水平或基线平均降低相关,在ERT初治患者中降幅更大。在12、24、36和48个月的随访后,CK水平分别在13/15、14/15、9/11和8/9的经历过ERT的患者中以及在6/6、6/6、5/5和4/5的ERT初治患者中在数值上相对于基线降低(图49B)。

[0437] 图50显示了ATB200-02研究中研究药物首次给药时或之后发生的治疗中出现的不良事件(TEAE)的总结。队列1(先前ERT 2-6年)、4(先前ERT≥7年)和3(ERT初治)中平均(SD)治疗持续时间分别为37.2(14.48)、19.9(4.13)和36.9(12.14)个月。最常见的TEAE包括摔倒、鼻咽炎、关节痛、头痛和腹泻;大多数TEAE的严重程度为轻度或中度,并且不会导致研究退出。

[0438] 来自ATB200-02研究的西帕葡糖苷酶α加麦格司他对能行走患者长达48个月的随访结果表明如下。经历过ERT的患者运动功能相对于基线有持久的平均改善,持续长达48个月的随访,而呼吸功能在同一时期保持稳定:与许多接受长期ERT的患者的预期衰退相比有所改善。ERT初治患者在运动和呼吸功能方面表现出相对于基线的持久平均改善,持续长达48个月的随访。两种生物标志物Hex4和CK的平均水平在长达48个月的随访期间要么保持稳定要么相对于基线下降,其中下降幅度在ERT初治队列中最为显著。西帕葡糖苷酶α加麦格司他的安全性谱与阿葡糖苷酶α的安全性谱相似。

[0439] 图55显示了针对队列2(不能行走的经历过ERT的患者)报告的终点和队列的总结。图56显示了队列2的基线特征和患者处置。

[0440] 对于这些不能行走的经历过ERT的患者,FVC相对于基线的变化(CFBL)在数值上相对于基线改善和/或在长达48个月的随访中保持稳定(图57)。到第12个月的平均变化为+2.5%,到第24个月为+2.0%,到第36个月为-2.0%,到第48个月为-1.0%。

[0441] 在这些不能行走的经历过ERT的患者中,MMT总得分(上半身)的平均变化相对于基线在数值上有所改善和/或在长达36个月的随访中保持稳定(图57)。到第12个月的平均变化为+1.3分,到第24个月为+2.0分,到第36个月为-0.8分。

[0442] 在这些不能行走的ERT经历患者的48个月随访期间,西帕葡糖苷酶α/麦格司他通常与尿Hex4和血浆CK相对于基线的平均降低有关(图57)。在12、24、36和48个月的随访后,Hex4水平相对于基线在数值上下降,平均下降分别为-15.6%、-34.1%、-36.5%和-4.0%。在12、24、36和48个月的随访后,血浆CK水平相对于基线在数值上下降,平均下降分别为-20.8%、-25.3%、-27.%和-23.7%。

[0443] 图58显示了ATB200-02研究中研究药物首次给药时或之后或队列2(在不能行走的经历过ERT的患者中)发生的治疗中出现的不良事件(TEAE)的总结。平均(SD)治疗持续时间

为46.3(22.86)个月。最常见的TEAE包括鼻咽炎和腹泻(均发生在3名患者中);大多数TEAE的严重程度为轻度或中度,并且不会导致研究退出。

[0444] 来自ATB200-02研究的西帕葡糖苷酶α加麦格司他对不能行走的经历过ERT的患者长达48个月的随访结果表明如下:这些患者的运动功能和肺功能相对于基线有持久的平均改善和/或稳定,持续长达48个月的随访:与许多接受长期ERT的患者的预期衰退相比有所改善。两种生物标志物Hex4和CK的平均水平在长达48个月的随访期间要么保持稳定要么相对于基线下降。西帕葡糖苷酶α加麦格司他在该患者组中总体耐受性良好。

实例12:ERT对庞贝病患者的长期影响

[0445] 图51显示了西帕葡糖苷酶α/麦格司他和艾夫糖苷酶α对经历过ERT的受试者中6MWD和预测FVC(坐姿)百分比相对于基线的变化的长期影响的比较。图52显示了西帕葡糖苷酶α/麦格司他和艾夫糖苷酶α对ERT初治受试者中6MWD和预测FVC(坐姿)百分比相对于基线的变化的长期影响的比较。比较显示,根据6MWD评估,从阿葡糖苷酶α转换为艾夫糖苷酶α的经历过ERT的患者继续经历运动功能进行性丧失,这与上文显示的继续长期使用阿葡糖苷酶α的患者的进展类似,而从阿葡糖苷酶α转换为西帕葡糖苷酶α/麦格司他的患者经历了分类变化,根据6MWD评估,显示出运动功能逐渐增强。在FVC方面也观察到类似的趋势,根据FVC评估,转换为艾夫糖苷酶α的患者经历肺功能进行性丧失,而根据FVC评估,从阿葡糖苷酶α转换为西帕葡糖苷酶α/麦格司他的患者的肺功能稳定。

[0446] 图53A-图53B显示在用阿葡糖苷酶α治疗期间预测的6分钟步行测试(6MWT)百分比。图53B显示了从图53A仅从第2年开始重新绘制的数据。图54显示在用阿葡糖苷酶α治疗期间预测的FVC百分比。从第2年开始的数据显示,经历过ERT的患者继续使用阿葡糖苷酶α的情况预计会有所衰退。

实例13:阿葡糖苷酶α(Alglu)、艾夫糖苷酶α(Aval)和西帕葡糖苷酶α+麦格司他(Cipa+mig)的比较

[0447] 在没有比较Aval和Cipa+mig的头对头试验的情况下,间接治疗比较(ITC)是更好地了解LOPD三种治疗的临床差异的合适方法。卫生技术评估机构(HTA)广泛要求ITC支持比较性卫生经济评估。

[0448] 进行ITC,其提供目标群体(即LOPD群体,包括ERT初治受试者和经历过ERT的受试者的混合体,如比较Cipa+mig与Alglu[PROPEL]的关键III期试验)的相对效果估计。

[0449] 进行了系统的文献综述(SLR),以确定LOPD中ERT的相关已发表临床研究。评估的结果是第52周时6分钟步行距离(6MWD)(m)和用力肺活量(FVC;预测百分比)相对于基线的变化,临床医生、HTA机构和支付方将其视为关键的LOPD试验终点。从纳入的研究中提取了6MWD和FVC随时间相对于基线的变化的汇总结果和基线特征(年龄、性别、种族、先前ERT持续时间、基线6MWD和基线FVC)。

[0450] 进行了多级网络元回归(ML-NMR),这是对标准网络元分析(NMA)的扩展,考虑了研究级协变量的影响,并且可应用于任何具有患者个体级数据(IPD)和总体数据混合物的连接网络。ML-NMR是国家健康和护理卓越研究所(National Institute for Health and Care Excellence,NICE)接受的方法,用于支持成本效益分析。单组研究结果与比较研究的适当比较组相匹配,以允许纳入网络。计算第52周时6MWD和FVC相对于基线的变化的平均治疗差异和相关的95%置信区间(CrI)。

[0451] 评估了基本情况情景,其中所有协变量都设置为PROPEL试验的目标群体。为了研究先前ERT持续时间对相对效果的影响,ERT持续时间值发生变化,保持剩余的协变量值与基本情况情景一样。通过从网络中排除所有匹配的单组证据来执行敏感性分析,以评估其对结果的影响。

[0452] 应用固定效应(FE)和随机效应(RE)ML-NMR模型,并使用偏差信息标准(DIC)评估模型的拟合优度并确定对于数据的合适模型(FE或RE模型)。在R包multinma的帮助下,使用Stan在贝叶斯框架中执行模型。

[0453] SLR确定了七项临床研究,其基线特征如图59所示。这些研究包括但不限于三项随机临床试验(LOTS:Alglu与安慰剂;COMET:Aval相比于Alglu;PROPEL:Cipa+mig相比于Alglu)。每个共享6MWD和FVC作为关键主要或次要终点(参见图60和61)但他们的试验群体不同(PROPEL是唯一的随机对照试验[RCT],其中包括ERT初治受试者和经历过ERT的受试者)。纳入研究的功效结果如图60所示。

[0454] 对于两个终点,网络是相同的,如图61所示。来自单组研究的证据LOTS OLE、NEO-1/-EXT、COMET OLE和ATB200-02已包含在网络中,如蓝色框所示,通过将单组结果与头对头试验的相应比较结果进行匹配。

[0455] 在基本情况情景下,协变量设置为目标群体的基线特征(即PROPEL试验;见表20),时间设置为52周。

表20:基本情况情景协变量设置

年龄(岁)	%男性	%白种人	ERT持续时间(年)	6MWD(米)	FVC(%预测)
46.95	45.08	84.43	5.744	355.8	70.42

[0456] 基于DIC,为6MWD选择了RE模型,为FVC选择了FE模型。对于两个终点(图62和63):Cipa+mig与Alglu和Aval相比显示出统计学上显著的有利效果;而Cipa+mig与安慰剂相比显示出数值上有利的效果。

[0457] 请注意,相比于安慰剂的相对效果估计的95% CrI通常比相比于Alglu或相比于Aval的相对效果估计的95% CrI宽得多。这反映了这些估计值的较大不确定性,因为安慰剂数据仅适用于ERT初治受试者,并且之前的基本情况情景的ERT持续时间相对较长(5.7年)。

[0458] 图64(6MWD)和图65(FVC)中显示了不同先前ERT持续时间(先前ERT持续时间=0年[即初治患者]、2.5年、5年和9.2年)的相对效果估计。

[0459] 基于DIC,为6MWD和FVC选择了RE模型。图66和图67概述了使用敏感性分析对基本情况情景的具有95% CrI的相对效果估计,并显示:

- 将匹配的单组证据纳入主要分析网络可减少相对效果估计的不确定性
- Cipa+mig:相比于Alglu在统计上有利;相比于Aval在数值上不利;相比于安慰剂在数值上有利(6MWT和FVC)
- Aval:相比于Alglu和安慰剂在数值上有利(6MWT和FVC)
- Alglu:相比于安慰剂在数值上有利

[0460] 总之,此处提供的ML-NMR比较表明,在主要分析的基本情况情景下,对于6MWD和FVC,Cipa+mig在统计学上显著优于Alglu和Aval。对于不同ERT持续时间的6MWD和FVC,Cipa+mig在统计学上也显著优于Alglu和Aval,但有一个例外:对于FVC,Cipa+mig在ERT初治设

置中仅在数值上优于Aval。

[0461] 敏感性分析(仅包括RCT数据)表明,将匹配的单组证据纳入主要分析网络可减少相对效果估计的不确定性。总体而言,这些结果表明Cipa+mig与其他ERT相比可能具有不同的临床谱,特别是对于先前接受过某种程度ERT治疗的个体。当更多的长期数据发布时,预计将进行进一步的分析以测试和完善调查结果。

实例14:西帕葡糖苷酶α+麦格司他(Cipa+mig)和阿葡糖苷酶α(Alglu)的长期比较

[0462] 上文实例9和实例10中描述的III期双盲PROPEL研究(NCT03729362;ATB200-03)在迟发性庞贝病(LOPD)成人患者中经52周比较了研究性双组分疗法西帕葡糖苷酶α/麦格司他(cipa/mig)与阿葡糖苷酶α/安慰剂(alglu)。PROPEL(NCT04138277;ATB200-07)正在进行的开放标签扩展(OLE)评估了cipa/mig的长期安全性和功效。结果包括6分钟步行距离(6MWD)、用力肺活量(FVC)、肌酸激酶(CK)和己糖四糖(Hex4)水平和安全性。数据报告为从PROPEL基线到OLE第52周(PROPEL基线后104周)的变化。研究设计和患者处置如图68所示并且和基线特征显示在图69中。结果示于图70-74中,并在下面进一步详细描述。在OLE(N=119;91例经历过酶替代疗法[ERT]和28例ERT初治)中,82/85(96.5%)先前接受cipa/mig治疗的患者继续cipa/mig,37/38(97.4%)从alglu转换到cipa/mig;直到第52周,90.8%的患者仍在OLE研究中。在经历过ERT的患者中,预测6MWD%的平均变化对于cipa/mig-cipa/mig为+3.1(8.07标准偏差)而对于alglu-cipa/mig为-0.5(7.76),并且在ERT初治患者中,对于cipa/mig-cipa/mig为+8.6(8.57)而对于alglu-cipa/mig为+8.9(11.65)。在经历过ERT的患者中,预测FVC%的平均变化对于cipa/mig-cipa/mig为-0.6(7.50)而对于alglu-cipa/mig为-3.8(6.23),并且在ERT初治患者中为-4.8(6.48)和-3.1(6.66)。对于cipa/mig-cipa/mig,经历过ERT的患者和ERT初治患者的CK(U/L)平均减少分别为-132.1(215.74)和-216.9(243.66),而对于alglu-cipa/mig分别为-161.0(269.52)和-218.6(316.47)。对于cipa/mig-cipa/mig,经历过ERT的患者和ERT初治患者的Hex4(mmol/mol)平均减少分别为-1.9(3.22)和-2.9(2.45),而对于alglu-cipa/mig分别为-2.6(3.75)和-2.9(2.22)。在PROPEL至OLE第52周期间,84名(98.8%)cipa/mig-cipa/mig患者和36名(97.3%)alglu-cipa/mig患者发生了治疗中出现的不良事件。三名患者因输注相关反应(分别为荨麻疹、荨麻疹和低血压以及过敏反应)而中止OLE。

[0463] 在PROPEL和OLE整个过程中,用cipa/mig治疗的经历过ERT的患者的6MWD和生物标志物水平较基线有所改善,并且在PROPEL整个过程中预测FVC%保持稳定,并且在OLE至第104周整个过程中这些结果保持稳定。在PROPEL期间接受过alg/pla治疗的经历过ERT的患者在6MWD中保持稳定,预测FVC和生物标志物水平百分比恶化,在OLE中转换为cipa/mig后稳定或改善。对于在PROPEL和OLE整个过程中接受cipa/mig治疗的ERT初治患者,6MWD和生物标志物水平在PROPEL整个过程中得到改善,并在OLE整个过程中保持稳定。预测FVC%在PROPEL整个过程中衰退并在OLE整个过程中稳定。在PROPEL期间接受alg/pla治疗并在OLE中转换为cipa/mig的ERT初治的患者显示出与自始至终接受cipa/mig治疗的患者相似的模式。没有发现新的安全性信号。数据表明cipa/mig治疗长达104周与持久效果相关且耐受性良好,支持LOPD患者治疗的长期益处。

实例15:西帕葡糖苷酶α和阿葡糖苷酶α中N-聚糖谱的比较

[0464] 使用LC-FLD分析了阿葡糖苷酶α和三种西帕葡糖苷酶α制剂,以评估它们的N-聚糖

谱,主要根据电荷和亲水性将其分为10个不同的类别。LC-FLD分析表明,与阿葡糖苷酶α相比,西帕葡糖苷酶α中双-M6P(第10类)N-聚糖种类的水平始终如一且绝对值更高。在单唾液酸化(第2类)、双唾液酸化(第4类)和单磷酸化(单-M6P,第6类)聚糖种类中观察到区分西帕葡糖苷酶α和阿葡糖苷酶α的相对丰度的其他差异。结果显示在图75和表21中。

[0465] 分析中包括的并在图75和表21中报告的西帕葡糖苷酶α的三种制剂是110C161009a(在第一个1000L生物反应器工程运行中以1000L工作体积生成的非临床药物物质)、110C171011a(临床药物物质)和2S1802(临床药物产品)。

[0466] 使用亲水相互作用液相色谱(HILIC)柱在超高效液相色谱(UHPLC)系统的控制下结合荧光检测(LC-FLD)完成分析,以分离由酰胺酶PNG酶F从西帕葡糖苷酶α中释放的荧光标记的2-AA(2-邻氨基苯甲酸)N-聚糖。类别(1-10)在表21中标记。

表21:基于LC-FLD分析,在西帕葡糖苷酶α制剂和阿葡糖苷酶α中鉴定的2-AA聚糖百分比丰度的总结。

聚糖类别	描述	西帕葡糖苷酶α			阿葡糖苷酶α
		批次 1	批次 2	批次 3	
1	中性高甘露糖或去唾液酸复合型	21.7	25.1	24.6	21.9
2	单唾液酸化	17.8	18.1	18.2	25.8
3	单唾液酸化或双唾液酸化	0.8	0.7	0.7	3.1
4	双唾液酸化	14.4	11.9	12.0	31.2
5	三唾液酸化	9.5	8.7	8.4	7.8
6	单磷酸化	13.8	13.1	13.4	4.2
7	四唾液酸化	1.4	1.0	1.4	0.6
8	单磷酸化(杂合型)	2.1	1.7	1.9	1.7
9	双磷酸化(杂合型)	2.8	2.5	2.6	1.6
10	双磷酸化	15.7	17.0	16.8	2.1
	总计	100.0	100.0	100.0	100.0

[0467] 在LC-FLD分析中,蛋白质变性、还原并用酶PNG酶F处理以释放N-连接聚糖。通过SDS-PAGE分析去糖基化的蛋白质。释放的聚糖用2-AA标记并通过正相色谱分析。简言之,将50μg ATB200与15μL含5% SDS和400mM二硫苏糖醇(DTT)的10×变性缓冲液混合,总体积为150μL,在100℃下加热10分钟,然后冷却至20℃。向每个变性的ATB200样品中加入20μL 10×NP-40和NEB Glyco反应缓冲液2,使最终反应体积达到190μL。添加10μL PNG酶F以释放N-

连接聚糖,并将反应在37℃下孵育16-18小时。使用10kDa MWCO超滤离心装置纯化释放的聚糖。将50μL的去糖基化反应物添加至离心装置并在14,000RCF下离心10分钟。在三个50μL的步骤中添加总共150μL的ddH_2O,通过在每个洗涤步骤以14,000RCF离心超滤装置10分钟,从去糖基化的ATB200中洗出聚糖。纯化的聚糖通过高速真空干燥并用2AA标记。经标记的聚糖在95% CAN/5% H_2O中沉淀,并在室温下以14,000RCF离心10分钟沉淀。将沉淀用95% CAN水溶液洗涤,再次离心,并使用高速真空干燥。将干燥的经标记的聚糖溶解在100μL 20% CAN水溶液中,并在4℃下储存,直至进行色谱分离和分析。在标记反应期间,糖基化和去糖基化ATB200样品各取2μL通过4-12% SDS-PAGE分离。使用帝王蓝染料对凝胶进行染色,并使用BioRad ChemiDoc MP成像系统进行可视化。聚糖类别分配基于之前的工作并根据已建立的峰形和色谱保留时间。使用Chromeleon对聚糖进行峰积分和定量。

[0468] 总的来说,通过LC-FLD对经2-AA标记的N-聚糖进行的N-聚糖谱分析将西帕葡糖苷酶α与阿葡糖苷酶α区分开来。如上所示,西帕葡糖苷酶α具有更高的M6P聚糖含量,强调了结构差异。特别是,西帕葡糖苷酶α具有更高的双-M6P聚糖,这归因于显著更高的CIMPR结合和摄取到肌肉细胞中。

实例16:M6P在西帕葡糖苷酶α的CIMPR结合和细胞摄取中的作用

[0469] 去除西帕葡糖苷酶α上的磷酸基团导致CIMPR结合受阻,并阻止rhGAA摄取到庞贝病患者的成纤维细胞中,证明了磷酸化聚糖对于治疗相关生物学效应的重要性。去磷酸化的西帕葡糖苷酶α是通过紫色酸性磷酸酶(PAP)去除单-和双-M6P上的磷酸基团而获得的。

[0470] 磷酸酯单-和双-M6P的去除由紫色酸性磷酸酶(PAP)完成。PAP水解磷酸酯和酸酐。在酸性条件下,磷酸酯单-和双-M6P上的磷酸盐被PAP去除,如图76A和76B中电泳迁移率的增加所示,同时保留西帕葡糖苷酶α的酶活性,如图76D中4MU-α-葡糖苷水解所示。西帕葡糖苷酶α用PAP处理18小时,在相同反应条件下但不添加PAP的阿葡糖苷酶α被用作模拟处理的对照。PAP处理导致从西帕葡糖苷酶αLC-FLD色谱图中完全去除双-M6P峰和几乎所有单-M6P峰。由于从单磷酸化和双磷酸化高甘露糖聚糖中去除磷酸盐,在中性高甘露糖聚糖区域中清楚地观察到额外的峰。

[0471] 图76C中所示的CIMPR叠加测定的结果显示西帕葡糖苷酶α以高亲和力结合CIMPR,如强条带所示,而PAP处理的葡糖苷酶α没有可检测的条带,表明不与CIMPR结合。此外,阿葡糖苷酶α的条带强度比西帕葡糖苷酶α的强度低得多,表明对CIMPR的结合亲和力较低。与模拟处理的西帕葡糖苷酶α相比,阿葡糖苷酶α和去磷酸化西帕葡糖苷酶α的CIMPR结合显著降低,这清楚地表明N-聚糖结构单-M6P和双-M6P对于西帕葡糖苷酶α的特性至关重要,这对其治疗生物学效应很重要。

[0472] CIMPR叠加测定是远蛋白质印迹的一种变体,其中蛋白质在SDS-PAGE上分离,转移到硝酸纤维素膜上,并用纯化的CIMPR代替常规蛋白质印迹中的一抗进行孵育。然后通过抗CIMPR抗体可视化CIMPR与rhGAA蛋白上含有M6P的聚糖的结合。

[0473] 与模拟处理的西帕葡糖苷酶α和模拟处理的阿葡糖苷酶α相比,评估了庞贝病患者成纤维细胞对去磷酸化的西帕葡糖苷酶α的相对细胞摄取。浓度为20nM的rhGAA的比较用于模拟跨入组织的西帕葡糖苷酶α的间质浓度,如图77A所示。经过18小时的酶摄取孵育后,将细胞洗涤2小时、收获、裂解,然后进行GAA活性和蛋白质印迹分析。通过4MU-α-葡糖苷水解测量内化的GAA,并相对于总细胞蛋白质作图,结果显示在图77B中。如图77C所示,通过蛋白

质印迹分析对细胞裂解物(3ug)的CIMPR结合进行分析。

[0474] 去磷酸化的西帕葡糖苷酶α被证明不能有效地内化到细胞中。如图77B和77C所示,通过4MU-α-葡糖苷水解和CIMPR结合,模拟处理的葡糖苷酶α被内化到庞贝病成纤维细胞中,并且内化程度高于常规阿葡糖苷酶α。然而,PAP处理的西帕葡糖苷酶α的细胞摄取被废除。这些结果证明了M6P的重要作用,并表明由于单-M6P和双-M6P N-聚糖的结构和数量,西帕葡糖苷酶α与阿法葡糖苷酶α相比具有更好的细胞摄取。

实例17:临床开发计划总结

[0475] 共有3项临床试验(研究ATB200-02、ATB200-03和ATB200-07),包括经历过ERT的和ERT初治的成人庞贝病患者(≥18岁)两者(研究ATB200-02和ATB200-03)或仅包括经历过ERT的成人庞贝病患者(研究ATB200-07),其将被纳入本临床功效总结(SCE),详情见表22。一百五十二名成人受试者掺加针对西帕葡糖苷酶α/麦格司他的临床开发计划,其中在正在进行的1/2期研究ATB200-02中,29名成人受试者暴露于西帕葡糖苷酶α/麦格司他,并且在已完成的3期研究ATB200-03中,123名成人受试者暴露于西帕葡糖苷酶α/麦格司他(85名受试者)或阿葡糖苷酶α/安慰剂(38名受试者)。在参加研究ATB200-03的123名受试者(85名接受西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗;38名接受阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗)中,共有117名受试者完成了研究,然后参加了研究ATB200-07。另外两名受试者(1107-1681和2010-1352)没有完成研究ATB200-03但参加了研究ATB200-07,使参加研究ATB200-07(OLE-ES群体)的受试者总数达到119(91名经历过ERT和28名ERT初治)。

表22:成人受试者临床研究总结

研究编号	研究设计	研究目标	受试者数目	治疗（剂量、形式、给药和途径）	关键终点
ATB200-02（进行中）	首次用于人体、开放标签、固定顺序递增剂量1/2期	第1阶段：安全性、耐受性和PK评估（已完成） 第2阶段：安全性耐受性、PK和PD（已完成） 第3阶段（进行中；2年）和第4阶段（进行中）：长期安全性、耐受性、功效、PK、PD和免疫原性	N = 29	第1阶段：单次递增剂量5、10和20 mg/kg西帕葡糖苷酶α IV 第2阶段：3剂20 mg/kg西帕葡糖苷酶α IV + 130 mg麦格司他口服胶囊QOW，随后3剂20 mg/kg西帕葡糖苷酶α IV + 260 mg麦格司他口服胶囊QOW 第3和第4阶段：20 mg/kg西帕葡糖苷酶α IV + 260 mg 麦格司他口服胶囊QOW	所有阶段，所有队列：安全性评估 第1和第2阶段，队列1：血浆西帕葡糖苷酶α和麦格司他的PK 第3和第4阶段，队列2：肌肉力量和PRO 第3和第4阶段，队列1、3和4：功能评估（运动功能、肌肉力量、肺功能）和PRO
ATB200-03（已完成）	多中心、双盲、随机、主动控制	功效与安全性 主要终点：以米为单位测量	N = 123	20 mg/kg 西帕葡糖苷酶 α IV + 195/260 mg 麦格	主要终点：第52周时6MWD 第一个关键次要终点：

研究编号	研究设计	研究目标	受试者数目	治疗（剂量、形式、给药和途径）	关键终点
	3期	的6MWD（这是6MWT中步行的距离）从基线到第52周的变化		司他口服胶囊 QOW（85名受试者） 20 mg/kg 阿葡糖苷酶 α IV +安慰剂口服胶囊 QOW（38名受试者）	预测 FVC % 其他关键次要终点依次为： • MMT 下肢 • 第26周时6MWD • PROMIS-身体功能 • PROMIS-疲劳 • GSGC

表22:成人受试者临床研究总结(续)

研究编号	研究设计	研究目标	受试者数目	治疗(剂量、形式、给药和途径)	关键终点
ATB200-07(进行中)	研究ATB200-03的多中心、开放标签扩展研究3期	安全性和功效评估	N = 119[a]	20 mg/kg西帕葡糖苷酶αIV+195/260 mg麦格司他口服胶囊QOW	长期安全性、功效、PD、PK、PRO

缩写:6MWD=6分钟步行距离;6MWT=6分钟步行测试;GSGC=步态、楼梯、高尔斯动作和椅子测试;IV=静脉内(地);LOPD=迟发性庞贝病;MMT=徒手肌力测试;N=受试者数量;PD=药效学;PK=药代动力学;PRO=患者报告的结果;PROMIS=患者报告的结果测量信息系统;QOW=每隔一周一次

[a]两名受试者停止研究ATB200-03并参加研究ATB200-07。在研究ATB200-07中共有119名受试者入组,118名受试者接受了给药。

注意:在研究ATB200-03和ATB200-07中,麦格司他剂量在<50kg的受试者中调整为195mg。

1/2期研究ATB200-02

[0476] 如上文关于实例8和实例11所述,研究ATB200-02是一项正在进行的开放标签、固定顺序、单次和多次递增剂量、首次人体研究,用于评估单独IV西帕葡糖苷酶α以及与口服麦格司他共同施用时在患有庞贝病的成人受试者中的安全性、耐受性、PK、PD、功效和免疫原性。研究设计包括4个阶段和4个队列,第1和第2阶段仅用于队列1,第3和第4阶段用于所有4个队列(图79)。SCE中总结的西帕葡糖苷酶α/麦格司他的功效数据来自第3阶段和第4阶段。

[0477] 研究中的4个队列如下:

- 队列1:经历过ERT(2至6岁)的能行走受试者(11名受试者)
- 队列2:经历过ERT(≥2年)的不能行走的受试者(6名受试者)
- 队列3:ERT初治的能行走受试者(6名受试者)
- 队列4:经历过ERT(≥7年)的能行走受试者(6名受试者)

[0478] 根据表22中的治疗分配,受试者被施用西帕葡糖苷酶α作为单一药剂或西帕葡糖苷酶α与麦格司他共同施用。

表22:第1、第2、第3和第4阶段的治疗分配—研究ATB200-02

队列	第 1 阶段（6 周）			第 2 阶段（12 周）	
	第 1 时间段 单剂量	第 2 时间段 单剂量	第 3 时间段 单剂量	第 4 时间段 3 个多剂量 共同施用	第 5 时间段 3 个多剂量 共同施用
队列 1（n = 11）	5 mg/kg ATB200	10 mg/kg ATB200	20 mg/kg ATB200	20 mg/kg ATB200 + 130 mg AT2221	20 mg/kg ATB200 + 260 mg AT2221
队列 2（n = 6）	NA				
队列 3（n = 6）	NA				
队列 4（n = 6）	NA				

队列	第 3 阶段（2 年）	第 4 阶段（直到批准）
	多剂量，24 个月，扩展 共同施用	多剂量、长期、扩展 共同施用
队列 1（n = 11）	20 mg/kg ATB200 + 260 mg AT2221	20 mg/kg ATB200 + 260 mg AT2221

队列	第 3 阶段（2 年）	第 4 阶段（直到批准）
	多剂量，24 个月，扩展 共同施用	多剂量、长期、扩展 共同施用
队列 2（n = 6）	20 mg/kg ATB200 + 260 mg AT2221	20 mg/kg ATB200 + 260 mg AT2221
队列 3（n = 6）	20 mg/kg ATB200 + 260 mg AT2221	20 mg/kg ATB200 + 260 mg AT2221
队列 4（n = 6）	20 mg/kg ATB200 + 260 mg AT2221	20 mg/kg ATB200 + 260 mg AT2221

缩写:AT2221＝麦格司他;ATB200＝西帕葡糖苷酶α;NA＝不适用;n＝受试者数量;SSC＝安全指导委员会

注意:2名前哨受试者中至少有1名将完成第5时间段、第2阶段给药,安全数据将由SSC审查,然后才能对队列2和3中的任何新入组受试者进行给药。队列2和队列3中的前2名受试者也将作为各自队列的前哨受试者。

[0479] 1/2期研究ATB200-02的主要目标是评估单独使用西帕葡糖苷酶α以及与口服麦格

司他共同施用时的安全性、耐受性、PK、PD和功效。

[0480] 关键3期研究ATB200-03的剂量选择基于研究ATB200-02的PK、PD/生物标志物、功效和安全性数据。西帕葡糖苷酶α的PK在研究ATB200-02的第1阶段和第2阶段得到了很好的表征,该研究表明西帕葡糖苷酶α的总体暴露增加,并且随着添加麦格司他暴露的额外增加。西帕葡糖苷酶α血浆暴露与麦格司他的这种增加与非临床研究的数据一致,在这些研究中,增加的暴露与糖原的增量式减少和肌肉力量的增加有关。

[0481] 研究ATB200-02提供了第3阶段和第4阶段的支持性功效数据,表明第1阶段和第2阶段中观察到的暴露量增加导致第3阶段和第4阶段中使用西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗后在广泛的终点具有临床意义的改善。在可获得数据的情况下,观察到48个月的功效改善,支持西帕葡糖苷酶α/麦格司他的长期功效。

第3阶段研究ATB200-03

[0482] 关键的第3阶段研究ATB200-03已经完成。ATB200-03研究是一项双盲、随机、多中心、全球对照试验,旨在评估与阿葡糖苷酶α/安慰剂(批准的疗法)相比,西帕葡糖苷酶α/麦格司他对先前接受过阿葡糖苷酶α治疗(即,经历过ERT)或从未接受过ERT(即,ERT初治)的成年LOPD受试者的功效和安全性。Myozyme(阿葡糖苷酶α)通过第三方供应商直接从赛诺菲健赞公司(Sanofi Genzyme)采购。阿米克斯公司(Amicus)对赛诺菲健赞公司的文件进行了科学评估。结果表明,美国产品(Lumizyme)和非美国产品(Myozyme)具有可比性。以2:1的比例随机分配受试者每隔一周接受一次西帕葡糖苷酶α/麦格司他或阿葡糖苷酶α/安慰剂,持续52周(图80)。

[0483] 研究ATB200-03的主要终点是评估与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比,西帕葡糖苷酶α/麦格司他共同施用对通过6MWT测量的运动功能的功效。第一个关键次要终点是评估与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比,西帕葡糖苷酶α/麦格司他共同施用对通过坐姿预测FVC百分比来测量的肺功能的功效。其他关键次要终点包括MMT下肢得分、第26周时的6MWD、PROMIS®-身体功能简表20a总得分、PROMIS-疲劳简表8a总得分和GSGC总得分。其他次要终点包括对运动功能、肺功能、肌肉力量和PRO的额外评估。还评估了肌肉损伤(CK)和疾病底物(Hex4)的生物标志物。

第3阶段研究ATB200-07

[0484] 研究ATB200-07是一项正在进行的开放标签扩展(OLE)研究,旨在评估西帕葡糖苷酶α/麦格司他在完成研究ATB200-03的成年LOPD受试者中的长期安全性和功效。在研究ATB200-03中接受阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗的受试者在研究ATB200-07中转为西帕葡糖苷酶α/麦格司他。研究剂量和时间表从研究ATB200-03保持。

研究结果总结

[0485] 本节总结了正在进行的1/2期开放标签研究ATB200-02、已完成的关键3期研究ATB200-03和3期长期扩展研究ATB200-07的结果。来自这些研究的数据单独呈现并作为汇总数据呈现。

实例18:研究ATB200-02

[0486] ATB200-02研究是一项1/2期研究,西帕葡糖苷酶α/麦格司他的功效主要基于研究第3和第4阶段的结果。

[0487] 截至2021年12月,29名受试者接受了西帕葡糖苷酶α/麦格司他,3名受试者提前停

药,26名受试者目前正在进行第4阶段。三名(10.3%)受试者在第3阶段中止了研究。平均(标准偏差[SD])暴露持续时间为48.4(18.04)个月。

[0488] 在研究ATB200-02中,所有经历过ERT的受试者和ERT初治受试者都表现出基于基线特征的庞贝病的显著影响。对于队列1和队列4(16名经历过ERT的能行走受试者),基线时平均(SD)预测6MWD%为60.2%(16.20%)。对于队列3(6名ERT初治能行走受试者),基线时平均(SD)预测6MWD%为67.8%(12.61%)。

[0489] 参加研究前经历过ERT的受试者的ERT治疗持续时间>2年,总体中位剂量为20mg/kg。ERT治疗的平均(SD)持续时间范围为队列1的5.1(1.27)年至队列4的10.6(2.06)年。

[0490] 下面引用的研究ATB200-02的结果基于2021年12月13日的数据截止日期,此时除队列4中的受试者外,所有受试者均已完成至少48个月的随访(或已停止)。支持长期功效的长达48个月的数据列于此处,并包含在下面的汇总分析中。研究ATB200-02的数据评估了庞贝病的主要临床领域,如运动功能、肺功能和肌肉力量,支持研究ATB200-03获得的结果。

运动功能

[0491] 在研究ATB200-02中,对所有能行走受试者(即,队列1、3和4)的运动功能进行了评估(表23,图46A-46D)。在第3阶段和第4阶段通过共同施用20mg/kg IV输注的西帕葡糖苷酶α和260mg麦格司他治疗48个月后,在经历过ERT的受试者(队列1和队列4)、ERT初治受试者(队列3)和总体(队列1、3和4)中观察到了具有临床意义的运动功能改善,如通过6MWT所测量的(表23)。在1-2年内观察到初步改善,并保持高于基线至第48个月。

[0492] 经历过ERT的队列和ERT初治队列均显示预测6MWD%从基线持续到48个月的平均改善(图46C和46D;表26B),其中88.9%的经历过ERT的患者和100%的ERT初治患者在第48个月时平均预测6MWD%相对于基线改善。在12个月、24个月、36个月和48个月的随访之后,分别有13/16、9/13、6/12和6/9的经历过ERT的患者的以米为单位的平均6MWD相对于基线在数值上有所改善。在12个月、24个月、36个月和48个月的随访之后,分别有6/6、6/6、4/5和4/4的ERT初治患者的以米为单位的平均6MWD相对于基线在数值上有所改善。

表23:从基线到第48个月的6-MWD(米)总结—第3阶段和第4阶段(功效群体)—研究ATB200-02

就诊/统计	队列 1 + 队列 4 (N = 16)	队列 3 (N = 6)	队列 1 + 队列 3 + 队列 4 (N = 22)
基线			
n	16	6	22
均数（SD）	393.5 (119.66)	396.0 (75.20)	394.2 (107.59)
平均值的 95% CI	329.7, 457.2	317.1, 474.9	346.5, 441.9
中位数（Q1，Q3）	394.5 (330.0, 491.5)	395.2 (378.3, 460.0)	395.2 (332.0, 480.0)
Min，max	104, 544	267, 480	104, 544
从基线到第 12 个月的变化			
n	16	6	22
均数（SD）	33.5 (49.62)	57.0 (29.96)	39.9 (45.69)
平均值的 95% CI	7.0, 59.9	25.6, 88.5	19.6, 60.1
中位数（Q1，Q3）	20.6 (8.3, 51.9)	55.6 (30.8, 78.9)	27.4 (12.0, 77.8)
Min，max	-44, 135	27, 95	-44, 135
从基线到第 24 个月的变化			
n	13	6	19
均数（SD）	25.2 (63.30)	54.4 (36.18)	34.4 (56.82)
平均值的 95% CI	-13.0, 63.5	16.4, 92.4	7.1, 61.8
中位数（Q1，Q3）	18.5 (-7.0, 58.0)	49.0 (22.6, 78.2)	22.6 (5.2, 78.2)
Min，max	-98, 135	21, 107	-98, 135
从基线到第 36 个月的变化			
n	12	5	17
均数（SD）	9.8 (85.98)	43.5 (45.19)	19.7 (76.44)
平均值的 95% CI	-44.8, 64.5	-12.6, 99.6	-19.6, 59.0
中位数（Q1，Q3）	11.6 (-13.7, 51.5)	59.0 (20.5, 80.0)	24.2 (-12.0, 59.0)
Min，max	-204, 131	-24, 82	-204, 131

表23:从基线到第48个月的6-MWD(米)总结—第3阶段和第4阶段(功效群体)—研究ATB200-02(续)

就诊/统计	队列 1 + 队列 4 (N = 16)	队列 3 (N = 6)	队列 1 + 队列 3 + 队列 4 (N = 22)
从基线到第 48 个月的变化			
n	9	4	13
均数 (SD)	20.7 (101.84)	52.2 (46.59)	30.4 (87.67)
平均值的 95% CI	-57.6, 99.0	-21.9, 126.3	-22.6, 83.4
中位数 (Q1, Q3)	27.0 (-3.3, 83.7)	40.5 (16.3, 88.0)	27.0 (13.7, 83.7)
Min, max	-215, 138	14, 114	-215, 138

缩写:6MWD=6分钟步行距离;CI=置信区间;max=最大值;min=最小值;N=入组的受试者总数;n=受试者子集;Q1=第一四分位数;Q3=第三四分位数;SD=标准偏差

注意:6分钟步行距离(6MWD)是在6分钟步行测试中以米为单位的步行距离。它仅由能行走受试者执行。

[0493] 共同施用20mg/kg IV输注的西帕葡糖苷酶α和260mg麦格司他(即在第2阶段、第5阶段、第3阶段和第4阶段)还导致经历过ERT的和ERT初治的能行走受试者的其他运动功能量度(包括10MWT、GSGC和TUG)的改善。在1至2年内观察到初步改善,并保持高于基线至第48个月。

肺功能

[0494] 在第3阶段和第4阶段治疗48个月后,共同施用20mg/kg IV输注的西帕葡糖苷酶α和260mg麦格司他(即在第2阶段、第5阶段、第3阶段和第4阶段)导致经历过ERT的受试者(队列1和队列4)、ERT初治受试者(队列3)和总体(队列1、3和4)的预测FVC%稳定或改善(表24,图47A-47B)。直到第48个月,这些值都保持在或高于基线。对于队列2(不能行走的受试者),预测坐姿FVC%在2名受试者中保持稳定,可用数据长达36个月。

[0495] 在经历过ERT的队列中,在长达48个月的随访中,以预测坐姿FVC%表示的平均CFBL总体上稳定(CFBL±3%分)(图47A,表26B),其中66.7%的经历过ERT的患者和75%的ERT初治患者在第48个月时有所改善(CFBL>3%分)。在12、24、36和48个月的随访后,预测坐姿FVC%在9/16、11/13、8/10和4/6的经历过ERT的患者中相对于基线分别改善(>3%分)或保持稳定(±3%分)。这进一步得到了最大呼气压力(MEP)结果的支持,最大呼气压力(MEP)结果在经历过ERT的患者中在12、24、36和48个月的随访中在数值上也相对于基线有所改善(表26B)。

[0496] 在ERT初治队列中,以预测坐姿FVC%表示的平均CFBL在第3个月时有所改善,然后在长达48个月的随访期间保持总体上稳定(图47B,表26B),除了只有一名患者在第21个月时预测坐姿FVC%大幅下降,这在第24个月的随访时恢复到之前的水平。在48个月的随访中,与经历过ERT的队列相比,ERT初治队列中平均预测坐姿FVC%改善更为显著(图47B,表26B)。在12、24、36和48个月的随访后,预测坐姿FVC%在5/6、6/6、5/5和4/4的ERT初治患者中相对于基线分别改善(>3%分)或保持稳定(±3%分)。预测坐姿FVC百分比数据得到其他肺部测量结果的类似结果的支持,包括%预测最大吸气压力(MIP)和MEP。在12、24、36和48个月的随访中,ERT初治患者的MIP在数值上有所改善(表26B)。

[0497] 不能行走的经历过ERT的队列2的长期功效数据有限。36个月后两名不能行走的经

历过ERT的患者和一名48个月随访患者的预测坐姿FVC百分比数据可用。随访36个月后,相对于基线,一名患者有所改善,另一名患者恶化。在48个月的随访后具有可用数据的患者与基线相比总体稳定(表26B)。

表24:从基线到第48个月的预测坐姿FVC%总结—第3阶段和第4阶段(能行走受试者;功效群体)—研究ATB200-02

就诊/统计	**队列 1 + 队列 4 (N = 16)**	**队列 3 (N = 6)**	**队列 1 + 队列 3 + 队列 4 (N = 22)**
基线			
n	16	6	22
均数 (SD)	57.4 (17.42)	57.2 (20.84)	57.3 (17.89)
平均值的 95% CI	48.1, 66.7	35.3, 79.0	49.4, 65.3
中位数 (Q1, Q3)	56.0 (46.0, 70.0)	59.0 (38.0, 77.0)	56.0 (45.0, 70.0)
Min, max	31, 88	31, 79	31, 88
从基线到第 12 个月的变化			

就诊/统计	队列 1 + 队列 4 (N = 16)	队列 3 (N = 6)	队列 1 + 队列 3 + 队列 4 (N = 22)
n	16	6	22
均数（SD）	-1.2 (5.95)	3.2 (8.42)	0.0 (6.79)
平均值的 95% CI	-4.4, 2.0	-5.7, 12.0	-3.0, 3.0
中位数（Q1，Q3）	-1.0 (-5.5, 4.0)	4.5 (-4.0, 11.0)	-0.5 (-5.0, 5.0)
Min，max	-12, 8	-9, 12	-12, 12
从基线到第 24 个月的变化			
n	13	6	19
均数（SD）	1.0 (7.96)	4.7 (5.09)	2.2 (7.24)
平均值的 95% CI	-3.8, 5.8	-0.7, 10.0	-1.3, 5.6
中位数（Q1，Q3）	1.0 (-2.0, 6.0)	4.0 (0.0, 9.0)	2.0 (-2.0, 6.0)
Min，max	-14, 15	-1, 12	-14, 15
从基线到第 36 个月的变化			
n	10	5	15
均数（SD）	-0.3 (6.68)	6.2 (3.35)	1.9 (6.48)
平均值的 95% CI	-5.1, 4.5	2.0, 10.4	-1.7, 5.5
中位数（Q1，Q3）	-1.5 (-3.0, 2.0)	5.0 (4.0, 6.0)	2.0 (-3.0, 6.0)
Min，max	-11, 13	4, 12	-11, 13
从基线到第 48 个月的变化			
n	6	4	10
均数（SD）	1.0 (6.42)	8.3 (4.50)	3.9 (6.61)
平均值的 95% CI	-5.7, 7.7	1.1, 15.4	-0.8, 8.6
中位数（Q1，Q3）	3.5 (-7.0, 5.0)	9.5 (5.0, 11.5)	4.5 (2.0, 8.0)
Min，max	-7, 8	2, 12	-7, 12

缩写:CI＝置信区间;FVC＝用力肺活量;max＝最大值;min＝最小值;N＝入组的受试者总数;n＝受试者子集;PFT＝肺功能测试;Q1＝第一四分位数;Q3＝第三四分位数;SD＝标准偏差

注意:PFT将在基线、第3阶段每3个月和第4阶段每6个月对所有能行走受试者和没有侵入性通气支持的不能行走受试者进行总结。较高的值表示改善肺活量。

肌肉力量

[0498] 在第3阶段和第4阶段治疗48个月后,共同施用20mg/kg IV输注的西帕葡糖苷酶α和260mg麦格司他(即在第2阶段、第5阶段、第3阶段和第4阶段)导致经历过ERT的能行走受试者(队列1和队列4)和ERT初治能行走受试者(队列3)的下肢和上肢以及近端肌肉群的肌肉力量稳定或改善,如通过MMT和QMT所测量的。在不能行走的受试者(队列2;仅上肢)中观察到稳定的结果。下肢MMT的结果显示在表25和图48A和48B中。

[0499] 无论基线时的ERT治疗状态如何,能行走患者都经历了基于MMT下肢得分的肌肉力

量的初始早期改善,该改善维持长达48个月的随访(图48A和48B,表26B)。经过12、24、36和48个月的随访,MMT下肢得分在14/15、11/13、10/10和8/8的经历过ERT的患者以及4/5、4/5、4/4和3/4的ERT初治患者中分别在数值上改善。

表25:从基线到第48个月的MMT下肢得分总结—第3阶段和第4阶段(能行走受试者;功效群体)—研究ATB200-02

就诊/统计	**队列 1 + 队列 4 (N = 16)**	**队列 3 (N = 6)**	**队列 1 + 队列 3 + 队列 4 (N = 22)**
基线			
n	15	5	20
均数 (SD)	30.0 (3.44)	29.0 (1.73)	29.8 (3.09)
平均值的 95% CI	28.1, 31.9	26.8, 31.2	28.3, 31.2
中位数 (Q1, Q3)	30.0 (28.0, 32.0)	30.0 (29.0, 30.0)	30.0 (28.5, 32.0)
Min, max	21, 34	26, 30	21, 34
从基线到第 12 个月的变化			
n	15	5	20
均数 (SD)	3.1 (2.34)	2.8 (4.97)	3.0 (3.04)
平均值的 95% CI	1.8, 4.4	-3.4, 9.0	1.6, 4.4
中位数 (Q1, Q3)	2.0 (2.0, 5.0)	4.0 (0.0, 5.0)	3.0 (2.0, 5.0)
Min, max	-2, 6	-4, 9	-4, 9
从基线到第 24 个月的变化			
n	13	5	18
均数 (SD)	2.1 (2.18)	3.0 (3.94)	2.3 (2.68)

就诊/统计	队列 1 + 队列 4 (N = 16)	队列 3 (N = 6)	队列 1 + 队列 3 + 队列 4 (N = 22)
平均值的 95% CI	0.8, 3.4	-1.9, 7.9	1.0, 3.7
中位数 (Q1, Q3)	2.0 (1.0, 4.0)	3.0 (2.0, 3.0)	2.0 (1.0, 4.0)
Min, max	-2, 6	-2, 9	-2, 9
从基线到第 36 个月的变化			
n	10	4	14
均数 (SD)	2.5 (3.69)	3.3 (2.75)	2.7 (3.36)
平均值的 95% CI	-0.1, 5.1	-1.1, 7.6	0.8, 4.7
中位数 (Q1, Q3)	1.5 (0.0, 4.0)	3.5 (1.0, 5.5)	2.0 (0.0, 4.0)
Min, max	0, 12	0, 6	0, 12
从基线到第 48 个月的变化			
n	8	4	12
均数 (SD)	3.5 (2.51)	1.0 (3.83)	2.7 (3.08)
平均值的 95% CI	1.4, 5.6	-5.1, 7.1	0.7, 4.6
中位数 (Q1, Q3)	3.0 (2.0, 5.0)	2.0 (-2.0, 4.0)	3.0 (1.0, 4.0)
Min, max	0, 8	-4, 4	-4, 8

缩写:CI=置信区间;FVC=用力肺活量;max=最大值;min=最小值;N=入组的受试者总数;n=受试者子集;PFT=肺功能测试;Q1=第一四分位数;Q3=第三四分位数;SD=标准偏差

注意:MMT将对所有受试者在基线时、在第3阶段每3个月,在第4阶段每6个月进行总结。较高的值表示疾病对肌肉功能的影响较小。

[0500] 在6MWD和FVC的48个月治疗中观察到的有利结果得到了肌肉力量、运动功能和呼吸功能等其他几个次要终点的有利方向趋势的支持。这些发现得到了PRO结果(FSS、R-PAct、RHS和SGIC)以及PGIC结果的进一步支持,这些结果表明受试者感知疲劳、进行日常生活活动的能力和整体身体健康得到了显著改善,支持这种治疗的总体益处。

[0501] PRO支持在运动功能、肌肉力量和肺功能测试中观察到的改善。在基线时,所有患者都受到疲劳的显著影响,如良好的平均CFBL FSS所示,疲劳在48个月的随访后有所改善。在48个月的随访后,所有能行走的患者都报告了与基线分数相比稳定的R-PAct得分和RHS(表26B)。在48个月的随访后,所有队列中大多数患者的整体身体健康的SGIC结果得到改善(表26C)。PGIC结果表明所有队列在48个月的随访后都有改善或稳定,并支持其他功效结局的结果(表26C)。

[0502] 两个不能行走的经历过ERT的患者长达48个月的随访的PRO结果可用,并证明与基线相比,FSS和稳定的RHS得分有所改善。R-PAct得分还显示在两名不能行走的经历过ERT的患者中从基线到随访48个月的平均改善,表明进行日常活动和参与社交场合的能力有所改善(表26B)。一名患者报告没有变化,一名患者报告SGIC整体身体健康状况相对于基线有所改善。两名经历过ERT的不能行走的患者的PGIC结果显示一名患者没有变化而另一名患者

衰退(表26C)。

药效学结果

[0503] 在48个月的随访期间,西帕葡糖苷酶α加麦格司他与经历过ERT的和ERT初治的能行走队列中血浆CK相对于基线的平均降低有关(图49B,表26B)。在12、24、36和48个月的随访后,血浆CK水平分别在13/15、14/15、9/11和8/9的经历过ERT的患者中以及在6/6、6/6、5/5和4/5的ERT初治患者中在数值上相对于基线降低。在基线和第48个月有可用CK数据的患者中,九名经历过ERT的患者中有六名(66.7%)在基线时CK水平异常,其中两名(33.3%)在第48个月时CK水平正常;五分之二(40.0%)ERT初治患者在基线时CK水平异常,在第48个月时仍然异常。在16/16、11/14、11/12和6/9的经历过ERT的患者和5/6、5/6、4/5和4/5的ERT初治的患者中在12、24、36和48个月随访后,尿Hex4也观察到类似的趋势,其在数值上相对于基线下降(图49A,表26B)。在基线和月时有Hex4数据的患者中,九名经历过ERT的患者中有五名(55.6%)在基线时Hex4水平异常,其中四名(80.0%)在48个月时Hex4水平正常;五分之四(80.0%)ERT初治的能行走患者在基线时有异常的Hex4测量值,其中一名(25.0%)在第48个月时恢复到正常的Hex4水平。

[0504] 不能行走的经历过ERT的患者血浆CK水平相对于基线持续下降:在12、24、36和48个月时分别为20.8%(n=5)、25.3%(n=5)、27.1%(n=3)和23.7%(n=2)。此外,在随访期间,尿Hex4水平也相对于基线持续下降。在12、24、36和48个月后,Hex4水平分别相对于基线下降15.6%(n=5)、34.1%(n=5)、36.5%(n=4)和9.4%(n=2)(表26B)。

药代动力学结果

[0505] 仅对队列1(经历过ERT)和队列3(ERT初治)采集血浆GAA蛋白和麦格司他浓度的血液样品。为防止对患者造成任何不当负担,未对不能行走的患者(队列2)以及队列4中的患者(由于与队列1相似)进行PK血液采样。在5mg/kg、10mg/kg和20mg/kg西帕葡糖苷酶α的单次递增剂量后,通过特征肽T09测量的血浆总GAA蛋白以剂量依赖性方式增加。一般而言,峰特征肽T09浓度的中位时间(t_{max})在所有治疗中相似,并且与大约4小时的西帕葡糖苷酶输注持续时间一致。暴露(C_{max}和血浆药物浓度-时间曲线下面积[AUC])以剂量依赖性方式增加。队列1和队列3能行走患者的血浆总GAA蛋白暴露相似。在队列1和队列3能行走患者中,血浆麦格司他暴露以剂量依赖性方式增加。队列1受试者的48个月稀疏PK采样表明暴露与研究早期(第2阶段)的暴露相似,并证实对西帕葡糖苷酶α暴露缺乏免疫原性影响。

[0506] 西帕葡糖苷酶α输注开始前一小时施用麦格司他导致AUC大于单独20mg/kg西帕葡糖苷酶α。麦格司他共同施用后分布相半衰期显著增加。麦格司他被迅速从循环中清除。

[0507] 庞贝病重要领域的功效数据表明,共同施用20mg/kg IV输注的西帕葡糖苷酶α和260mg麦格司他可在运动功能、PFT和肌肉力量方面产生具有临床意义的改善。能行走受试者的改善在各个功效领域得到证明,表26A中提供的证据通常支持改善维持48个月(如果数据可用)。

表26A:能行走受试者中的功效评估总结—第24个月和第48个月第3阶段和第4阶段相对于基线的变化—研究ATB200-02

临床应答评估（选定的药效学和功效）	平均（SD）基线和24个月和48个月时相对于基线的变化								
	经历过ERT 队列1+队列4（N=16）[a]			ERT初治 队列3（N=6）[a]			总体 队列1+队列3+队列4（n=22）[a]		
	BSL	24-mo CFB	48-mo CFB	BSL	24-mo CFB	48-mo CFB	BSL	24-mo CFB	48-mo CFB
6MWD（米）	393.5 (119.66)	25.2 (63.30)	20.7 (101.84)	396.0 (75.20)	54.4 (36.18)	52.2 (46.59)	394.2 (107.59)	34.4 (56.82)	30.4 (87.67)

临床应答评估（选定的药效学和功效）	平均（SD）基线和24个月和48个月时相对于基线的变化								
	经历过ERT 队列1+队列4（N=16）[a]			ERT初治 队列3（N=6）[a]			总体 队列1+队列3+队列4（n=22）[a]		
	BSL	24-mo CFB	48-mo CFB	BSL	24-mo CFB	48-mo CFB	BSL	24-mo CFB	48-mo CFB
	(n=16)	(n=13)	(n=9)	(n=6)	(n=6)	(n=4)	(n=22)	(n=19)	(n=13)
坐姿FVC（%预测）	57.4 (17.42) (n=16)	1.0 (7.96) (n=13)	1.0 (6.42) (n=6)	57.2 (20.84) (n=6)	4.7 (5.09) (n=6)	8.3 (4.50) (n=4)	57.3 (17.89) (n=22)	2.2 (7.24) (n=19)	3.9 (6.61) (n=10)
MMT（总得分）	65.1 (6.46) (n=15)	2.5 (3.45) (n=13)	4.0 (3.70) (n=8)	67.2 (3.70) (n=5)	2.0 (5.70) (n=5)	-1.3 (4.99) (n=4)	65.6 (5.88) (n=20)	2.4 (4.02) (n=18)	2.3 (4.71) (n=12)
GSGC	14.3 (5.22) (n=16)	-1.6 (5.20) (n=14)	-1.0 (6.02) (n=9)	12.8 (3.54) (n=6)	-1.7 (2.07) (n=6)	-2.4 (2.70) (n=5)	13.9 (4.79) (n=22)	-1.7 (4.43) (n=20)	-1.5 (5.00) (n=14)

缩写:6MWD＝6分钟步行距离;BSL＝基线;CFB＝相对于基线的变化;ERT＝酶替代疗法;FVC＝用力肺活量;GSGC＝步态、楼梯、高尔斯动作和椅子测试;MMT＝徒手肌力测试;mo＝月;N＝受试者数量

注意:对于GSGC,负数表示有所改善。

[a]基线时的n。括号中显示了基线时n的任何差异。

表26B:能行走和不能行走的临床结果总结

结果测量	**能行走患者**							
	经历过 ERT				ERT 初治			
时间点（月）	12	24	36	48	12	24	36	48
运动功能								
预测 6MWD 百分比 n CFBL 平均值 （SD）	 16 6.1 (7.84)	 13 5.4 (10.56)	 12 3.4 (14.66)	 9 5.9 (17.36)	 6 10.7 (3.93)	 6 11.0 (5.06)	 5 9.0 (7.98)	 4 11.7 (7.69)
6MWD，米								

n CFBL 平均值（SD）	16 33.5 (49.62)	13 25.2 (63.30)	12 9.8 (85.98)	9 20.7 (101.94)	6 57.0 (29.96)	6 54.4 (36.18)	5 43.5 (45.19)	4 52.2 (46.59)
10 米步行测试，秒 n CFBL 平均值（SD）	16 -0.1 (1.47)	14 1.0 (3.19)	12 3.9 (12.56)	9 0.6 (1.74)	6 -0.9 (0.75)	6 -0.5 (1.00)	5 0.1 (0.61)	5 0.7 (1.66)
步态、楼梯、高尔斯和椅子 n CFBL 平均值（SD）	16 -1.3 (4.39)	14 -1.6 (5.20)	12 -1.1 (5.18)	9 -1.0 (6.02)	6 -0.8 (2.23)	6 -1.7 (2.07)	5 -2.0 (2.12)	5 -2.4 (2.70)
计时起立行走，秒 n CFBL 平均值（SD）	15 -1.5 (2.68)	13 0.1 (2.24)	12 -1.5 (3.68)	9 -0.6 (2.41)	6 -0.7 (1.95)	6 -1.0 (2.00)	5 0.5 (3.59)	5 0.3 (2.33)
肺功能								
预测坐姿 FVC 百分比 n CFBL 平均值（SD）	16 -1.2 (5.95)	13 1.0 (7.96)	10 -0.3 (6.68)	6 1.0 (6.42)	6 3.2 (8.42)	6 4.7 (5.09)	5 6.2 (3.35)	4 8.3 (4.50)
预测最大吸气压力百分比% n CFBL 平均值（SD）	16 3.7 (11.61)	13 4.5 (20.67)	11 -0.5 (22.23)	6 -3.8 (5.41)	6 8.0 (15.46)	6 18.7 (23.90)	5 12.5 (20.71)	4 16.1 (17.23)
预测最大呼气压力百分比% n CFBL 平均值（SD）	16 9.4 (21.37)	13 16.8 (21.88)	11 13.7 (26.79)	6 17.9 (30.81)	6 11.6 (18.16)	6 17.9 (16.25)	5 14.2 (20.27)	4 24.8 (24.15)

预测嗅鼻吸气压力百分比% n CFBL 平均值（SD）	16 2.1 (18.56)	13 5.3 (23.86)	11 -2.3 (23.65)	6 7.3 (21.79)	6 9.4 (13.04)	6 8.1 (11.48)	5 4.3 (9.30)	4 4.6 (7.76)
肌肉力量								
下半身 MMT 得分 n CFBL 平均值（SD）	15 3.1 (2.34)	13 2.1 (2.18)	10 2.5 (3.69)	8 3.5 (2.51)	5 2.8 (4.97)	5 3.0 (3.94)	4 (3.3 (2.75)	4 (1.0) 3.83)
上半身 MMT 得分 n CFBL 平均值（SD）	15 1.3 (2.52)	13 0.5 (2.30)	11 0.8 (2.75)	8 0.5 (2.00)	6 0.0 (1.67)	6 -1.5 (2.17)	5 1.0 (1.87)	5 -1.4 (2.61)
MMT 总得分 n CFBL 平均值（SD）	15 4.3 (3.20)	13 2.5 (3.45)	10 3.6 (5.23)	8 4.0 (3.70)	5 2.4 (4.39)	5 2.0 (5.70)	4 3.5 (3.00)	4 -1.3 (4.99)
患者报告的结果								
拉施（Rasch）建立的庞贝氏-比活性 n CFBL 平均值（SD）	15 1.3 (2.97)	13 2.2 (1.52)	11 -0.1 (3.24)	9 -0.3 (2.96)	6 2.0 (3.46)	6 2.2 (3.43)	5 1.4 (1.52)	5 -0.6 (5.22)
鹿特丹障碍（Rotterdam Handicap）度量 n CFBL 平均值	15 -0.3 (3.01)	14 -1.1 (3.91)	11 -2.3 (4.44)	9 -2.3 (3.16)	6 -0.4 (2.06)	6 -0.4 (2.14)	5 -1.2 (0.84)	5 -1.3 (2.56)

（SD）								
疲劳严重性度量 n CFBL 平均值（SD）	15 -2.9 (10.55)	14 -3.1 (8.82)	11 1.4 (16.74)	9 -3.4 (10.10)	6 -6.3 (7.06)	6 -5.5 (11.40)	5 -6.2 (10.57)	5 1.2 (7.95)
生物标志物								
血清肌酸激酶，U/L n % CFBL 平均值（SD）	15 -20.5 (35.38)	15 -29.9 (21.67)	11 -30.0 (35.59)	9 -35.3 (27.11)	6 -50.6 (20.18)	6 -46.5 (19.32)	5 -50.7 (14.70)	5 -35.9 (36.12)
尿 Hex4，mmol/mol 肌酸 n % CFBL 平均值（SD）	16 -36.11 (20.40)	14 -11.8 (68.57)	12 -35.1 (42.20)	9 -4.0 (82.57)	6 -40.7 (40.60)	6 -49.5 (48.06)	5 -39.3 (59.19)	5 -39.9 (44.68)

结果测量	**不能行走的患者**			
	经历过 ERT			
时间点（月）	12	24	36	48
运动功能	n/a	n/a	n/a	n/a
预测 6MWD 百分比 n CFBL 平均值（SD）	n/a	n/a	n/a	n/a
6MWD，米 n CFBL 平均值（SD）	n/a	n/a	n/a	n/a
10 米步行测试，秒 n CFBL 平均值（SD）	n/a	n/a	n/a	n/a
步态、楼梯、高尔斯和椅子	n/a	n/a	n/a	n/a

n CFBL 平均值（SD）				
计时起立行走，秒 n CFBL 平均值（SD）	n/a	n/a	n/a	n/a
肺功能				
预测坐姿 FVC 百分比 n CFBL 平均值（SD）	2 2.5 (9.19)	1 2.0 (N/A)	2 -2.0 (7.07)	1 -1.0 (N/A)
预测最大吸气压力百分比% n CFBL 平均值（SD）	3 1.1 (4.71)	2 3.3 (1.39)	3 -0.4 (5.20)	2 3.9 (2.35)
预测最大呼气压力百分比% n CFBL 平均值（SD）	3 10.6 (10.28)	2 21.1 (25.72)	3 11.5 (22.30)	2 21.0 (27.00)
预测嗅鼻吸气压力百分比% n CFBL 平均值（SD）	3 4.5 (13.96)	2 7.8 (13.65)	3 -0.4 (4.03)	2 -4.1 (3.26)
肌肉力量				
下半身 MMT 得分 n CFBL 平均值（SD）	N/A N/A	N/A N/A	N/A N/A	N/A N/A
上半身 MMT 得分 n CFBL 平均值（SD）	4 1.3 (3.40)	4 2.0 (6.63)	4 -0.8 (10.72)	N/A N/A
MMT 总得分 n CFBL 平均值（SD）	4 1.3 (3.40)	4 2.0 (6.63)	4 -0.8 (10.72)	N/A N/A
患者报告的结果				
拉施（Rasch）建立的庞贝氏-比活性 n CFBL 平均值（SD）	5 1.4 (1.95)	4 0.8 (0.96)	4 0.8 (0.96)	2 2.0 (4.24)
鹿特丹障碍（Rotterdam				

Handicap）度量 n CFBL 平均值（SD）	4 0.6 (3.15)	4 0.6 (4.66)	4 0.6 (1.67)	2 -1.5 (4.95)
疲劳严重性度量 n CFBL 平均值（SD）	5 -9.2 (11.37)	5 -23.0 (17.78)	5 -10.0 (9.35)	2 -12.0 (15.56)
生物标志物				
血清肌酸激酶，U/L n % CFBL 平均值（SD）	5 -20.8 (8.84)	5 -25.3 (16.83)	4 -27.1 (32.43)	2 -23.7 (23.90)
尿 Hex4，mmol/mol 肌酸 n % CFBL 平均值（SD）	5 -15.6 (16.67)	5 -34.1 (14.08)	4 -36.5 (23.13)	2 -9.4 (1.71)

表26C:48个月随访时受试者和医生对变化的总体印象的总结

	能行走经历过 ERT		**不能行走的经历过 ERT 的**	**能行走 ERT 初治**
	队列 1 N = 7	**队列 4 N = 6**	**队列 2 N = 5**	**队列 3 N = 6**
SGIC；总体身体健康				
改善，n（%）	6 (85.7)	4 (66.7)	3 (60.0)	5 (83.3)
没有变化，n（%）	1 (14.3)	1 (16.7)	2 (40.0)	1 (16.7)
衰退，n（%）	0 (0)	1 (16.7)	0 (0)	0 (0)
PGIC				
改善，n（%）	4 (57.1)	2 (33.3)	3 (60.0)	6 (100.0)
没有变化，n（%）	3 (42.9)	4 (66.7)	2 (40.0)	0 (0)
衰退，n（%）	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

实例19:研究ATB200-03

[0508] 研究ATB200-03是临床计划中的关键3期研究,西帕葡糖苷酶α/麦格司他的功效主要基于该研究的主要和关键次要功效结果的总结。

[0509] 共有123名受试者被随机分配和给药(95名经历过ERT,28名ERT初治),117名受试者在24个国家/地区的62个站点完成了研究(有6名停药,经历过ERT的群体)。接受西帕葡糖苷酶α/麦格司他和阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗的受试者的平均(SD)暴露持续时间相似(分别为11.8(1.80)个月和12.0(0.71)个月),最长持续时间分别为14.8个月和12.9个月。退出率非常低,所有117名完成研究的受试者随后都参加了开放标签扩展研究ATB200-07。

[0510] 基线群体统计特征代表了群体,并且在西帕葡糖苷酶α/麦格司他和阿葡糖苷酶α/

安慰剂治疗组之间通常相似。大多数受试者(95[77.2%])经历过ERT,平均(SD)ERT治疗持续时间为7.4(3.45)年。受试者之前接受的ERT在西帕葡糖苷酶α/麦格司他组中为平均7.5年和在阿葡糖苷酶α/安慰剂组中为平均7.1年。

[0511] 基线6MWD和FVC,以及MMT和GSGC得分代表了群体,并且在治疗组中通常相似。对于为西帕葡糖苷酶α/麦格司他和阿葡糖苷酶α/安慰剂组的受试者,基线6MWD平均值(SD)分别为357.9(111.84)米和350.1(119.78)米。在每个治疗组中,与经历过ERT的受试者相比,ERT初治治疗的受试者的基线6MWD和FVC均更高(表27)。

表27:基线6MWD和预测FVC%-研究ATB200-03

终点	**西帕葡糖苷酶 α/麦格司他**		**阿葡糖苷酶 α**	
6MWD, m	**(N = 85)**		**(N = 38)**	
均数 (SD)	357.93 (111.843)		350.14 (119.776)	
中位数 (min, max)	359.50 (79.0, 575.0)		358.45 (112.5, 623.0)	
	经历过 ERT	**ERT 初治**	**经历过 ERT**	**ERT 初治**
n	65	20	30	8
均数 (SD)	346.94 (110.213)	393.64 (112.388)	334.62 (114.023)	408.34 (130.628)
中位数 (min, max)	352.50 (79.0, 557.5)	375.15 (154.0, 575.0)	343.50 (112.5, 532.3)	384.25 (201.0, 623.0)
预测 FVC %, 坐姿	**N = 85**		**N = 38**	
均数 (SD)	70.74 (19.573)		70.04 (21.301)	
中位数 (min, max)	70.00 (30.5, 132.5)		71.25 (31.5, 122.0)	
	经历过 ERT	**ERT 初治**	**经历过 ERT**	**ERT 初治**
n	65	20	30	8

终点	**西帕葡糖苷酶 α/麦格司他**		**阿葡糖苷酶 α**	
6MWD, m	**(N = 85)**		**(N = 38)**	
均数 (SD)	67.85 (19.052)	80.15 (18.689)	67.48 (20.993)	79.63 (20.962)
中位数 (min, max)	68.00 (30.5, 132.5)	82.25 (48.0, 111.0)	69.00 (31.5, 122.0)	88.50 (46.5, 98.0)

缩写:6MWD=6分钟步行距离;ERT=酶替代疗法;FVC=用力肺活量;max=最大值;min=最小值;N=每个群体中的受试者数量;n=在基线时分析的受试者数量;SD=标准偏差

[0512] 主要终点的检验首先在1侧0.025的显著性水平下进行,如果显著,则在相同的显著性水平上对有序的关键次要终点进行类似的检验。关键次要终点的统计显著性按照分层测试顺序进行解释,每个终点的1侧α水平为0.025。如果在任何时候零假设未能被拒绝,那么该比较和它下面的任何其他比较都不能声称在优势方面具有统计显著性,并且随后的分析将评估名义上的优势显著性。使用重复测量混合效应模型(MMRM)针对意向治疗观察群体(ITT)的6MWD进行功效初步分析,该ITT包括所有可用的观察数据,无任何缺失数据插补(ITT-OBS),以及针对意向治疗-末次观察推进法(ITT-LOCF)群体的所有其他终点进行的方

差分析(ANCOVA)。基于非参数随机化的ANCOVA被指定为6MWD和FVC的第一个敏感性分析。如果主要参数分析未能满足正态性假设,则将正式进行此非参数分析。出于本文档中数据呈现的目的,除非另有说明,否则在下文中报告了2侧p值。

[0513] 表28总结了包括经历过的ERT和ERT初治的受试者在内的总体ITT群体的主要终点和6个关键次要终点的结果。与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比,西帕葡糖苷酶α/麦格司他的6MWD显示出更大的改善,但未达到优于批准的治疗的统计学优势显著性(p=0.608)。在预测的FVC%方面,西帕葡糖苷酶α/麦格司他在总体ITT群体中显示出与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比具有名义统计学显著性(p=0.048)和有临床意义的优势差异。

[0514] 相比于阿葡糖苷酶α/安慰剂,运动功能、肺功能、肌肉力量和PRO等其他关键次要终点的结果在数值上有利于西帕葡糖苷酶α/麦格司他,GSGC也在优势方面显示出名义上的统计学显著性。

表28:主要和关键次要终点(ITT群体)的结果总结—研究ATB200-03

水平 终点	用于分析西帕葡糖苷酶α/麦格司他的观察数量	用于分析阿葡糖苷酶α/安慰剂的观察数量	LS平均治疗差异(SE)[a]	差异的95% CI	2侧p值
主要终点[b]					
CHG至第52周,6MWD(米)	81	37	5.33 (10.367)	(-15.21, 25.88)	0.608
第一个关键次要终点[c]					
CHG到第52周,预测坐姿FVC%	84	38	2.32 (1.162)	(0.02, 4.62)	0.048
另外的关键次要终点					
CHG至第52周,MMT下肢得分	80	35	0.99 (0.716)	(-0.43, 2.41)	0.168
CHG至第26周,6MWD(米)	85	38	5.46 (6.484)	(-7.39, 18.30)	0.402

表28:主要和关键次要终点(ITT群体)的结果总结—研究ATB200-03(续)

水平 终点	用于分析西帕葡糖苷酶α/麦格司他的观察数量	用于分析阿葡糖苷酶α/安慰剂的观察数量	LS平均治疗差异（SE）[a]	差异的95% CI	2侧p值
CHG至第52周，PROMIS-身体功能总得分[d]	84	38	1.37 (1.714)	(-2.03, 4.77)	0.426
CHG至第52周，PROMIS-疲劳总得分[d]	85	38	0.13 (1.079)	(-2.00, 2.27)	0.903
CHG至第52周，GSGC总得分	72	31	-1.30 (0.524)	(-2.34, -0.26)	0.015

缩写:6MWD＝6分钟步行距离;ANCOVA＝协方差分析;CHG＝相对于基线的变化;CI＝置信区间;FVC＝用力肺活量;GSGC＝步态、楼梯、高尔斯动作和椅子测试;ITT＝意向治疗;ITT-OBS＝意向治疗群体,包括第52周时所有可用的观察数据,没有任何缺失数据插补;LOCF＝末次观察推进法;LS＝最小二乘法;MMRM＝混合效应模型重复测量;MMT＝徒手肌力测试;PROMIS＝患者报告的结果测量信息系统;SE＝标准误差

[a]西帕葡糖苷酶α/麦格司他-阿葡糖苷酶α/安慰剂。

[b] MMRM方法用于基于ITT-OBS群体的主要终点的主要分析。

[c] ANCOVA模型用于基于ITT-LOCF群体的关键次要终点的主要分析。

[d]总得分是通过将所有项目的得分(1到5)相加计算得出的。

[0515] 应该注意的是,受试者4005-2511(ERT初治受试者)在比较组中存在异常数据点,结果证明这是非常有影响力的离群值,并且扭曲了根据原始数据计算出的平均变化估计值。仅来自这1名受试者的数据点就占了比较组(即阿葡糖苷酶α/安慰剂)第52周时相对于基线的平均变化的约56％,并将比较组中的方差扩大西帕葡糖苷酶α/麦格司他组的约6倍。

[0516] 对总体ITT群体的6MWD进行了预设的离群值排除分析,该分析排除了外部学生化残差>3的离群值,并且用西帕葡糖苷酶α/麦格司他组治疗的受试者比阿葡糖苷酶α/安慰剂组的受试者平均多走了14米(p＝0.100)(表29)。这些结果与排除了受试者4005-2511的总体ITT群体的结果一致。

表29:主要终点的敏感性分析:第52周时6MWD(米)相对于基线的变化的ANCOVA(ITT-LOCF群体,排除具有外部学生化残差的离群值>3)—研究ATB200-03

	西帕葡糖苷酶 α/麦格司他 (N = 85)	阿葡糖苷酶 α/安慰剂 (N = 37)
ANCOVA 的参数估计和比较[a]		
n	85	37
LS 平均值 (SE)	20.91 (4.519)	6.95 (6.951)
LS 平均值的 95% CI	(11.96, 29.86)	(-6.82, 20.72)
LS 平均值 (SE) 的差异 (西帕葡糖苷酶 α/麦格司他 - 阿葡糖苷酶 α/安慰剂)		13.96 (8.421)
差异的 95% CI		(-2.72, 30.64)
2 侧 p 值		0.100

缩写:6MWD=6分钟步行距离;ANCOVA=协方差分析;CI=置信区间;ERT=酶替代疗法;ITT-LOCF=意向治疗—末次观察推进法;LS=最小二乘法;N=每个治疗组中的受试者数量;n=具有可用数据的受试者数量;SE=标准误差

注意:ANCOVA基于ITT-LOCF,排除了在大小上外部学生化残差>3的离群值(绝对值)。

[a]所有估计值均来自ANCOVA模型,包括以下项:治疗、基线6MWD、年龄、身高、体重(均为连续协变量)、ERT状态(ERT初治相比于经历过ERT)和性别。

[0517] 检查了6MWD的MMRM分析的假设,包括正态性假设。根据对诊断图和Shapiro-Wilk检验的检查,明显违反了MMRM分析的正态性假设(Shapiro-Wilk检验p<0.01)。因此,按照规定进行了基于非参数随机化的协方差分析,以更好地估计治疗效果。基于非参数随机化的协方差分析的最小二乘(LS)平均治疗差异(95%置信区间[CI])为6.61(-15.12,28.35),p值为0.551。

[0518] 为了支持西帕葡糖苷酶α/麦格司他对6MWD和预测FVC%(这两个是庞贝病患者的重要疾病领域)的主要和关键次要终点的治疗效果的临床意义和一致性,进行了事后全局测试(表30)。该全局测试是通过以下方式进行的:将个别受试者分别对这2个相同终点中的每一个终点的应答按从最小改善到最大改善的顺序进行排序,将每个受试者的2个排序相加,并使用Wilcoxon秩和检验分析相加后的排序,以评估西帕葡糖苷酶α/麦格司他相对于阿葡糖苷酶α/安慰剂的优势。全局测试显示,与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比,接受西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗的患者的6MWD或FVC有更大改善(p=0.022)。此全局测试支持在所研究的总体ITT群体中分别在这些终点中的每一个上观察到的结果。

表30:基于6MWD和FVC(ITT群体)秩和的Wilcoxon秩和检验-研究ATB200-03

治疗	N	得分的加和	平均得分	统计	Z-统计	2 侧 p 值[a]
阿葡糖苷酶 α/安慰剂	38	1915.5	50.4	1916	-2.3	0.022
西帕葡糖苷酶 α/麦格司他	84[b]	5587.5	66.5			

缩写:6MWD=6分钟步行距离;FVC=用力肺活量;ITT=意向治疗;N=受试者数量

注意:该全局测试是通过以下方式进行的:将个别受试者分别对每个终点的应答(即,从基线到第52周的变化)按从最小改善到最大改善的顺序进行排序,将每个受试者的2个排序相加,并使用Wilcoxon秩和检验分析相加后的排序。

[a] P值来自使用t近似的Wilcoxon 2样品检验。

[b]对于预测FVC%(N=84),受试者2301-1421的基线结果为70.5%,但随后由于不想前往站点而退出研究,因此被排除在分析之外。

[0519] 数据库锁定后,与主要研究者的讨论显示,受试者4005-2511在筛选时故意在6MWD和肺功能测试中表现不佳,以确保他符合纳入标准并进入研究。进行了排除离群数据点的预先指定的敏感性分析,该分析排除了该受试者的数据点。鉴于该受试者承认其筛选测试表现不佳,其临床结果不可信,并且预设的离群值敏感性分析表明与包含该受试者的ITT分析存在实质性差异,因此对ITT群体的所有功效分析均在有和没有该离群值受试者的情况下进行。包括在总体群体和ERT初治群体中的该受试者的详细信息以及该受试者的二次分析结果可在研究ATB200-03 CSR中找到。应该指出的是,离群值受试者是在ERT初治群体中。因此,对经历过ERT的群体的分析结果没有受到影响。

主要终点:6MWD

[0520] 在研究ATB200-03中,6MWD(米)从基线到第52周的平均(SD)变化显示,与阿葡糖苷酶α/安慰剂组的8.0(40.56)米相比,西帕葡糖苷酶α/麦格司他组平均改善了20.6(42.27)米。因此,用西帕葡糖苷酶α治疗的受试者在6MWD中随着时间的推移表现出改善,直至52周。与总体ITT群体相似,即使在排除离群值之后,基于诊断图和Shapiro-Wilk检验(Shapiro-Wilk检验p值<0.01)的检查,MMRM分析的正态性假设也被违反。因此,基于ANCOVA的非参数分析是在包括离群值在内的总体ITT群体中进行的。

[0521] 基于非参数随机化的协方差分析的LS平均治疗差异(95% CI)为13.66(-1.17,28.48),p值为0.071。

[0522] 表31总结了对经历过ERT的群体通过就诊(ITT群体)和MMRM分析(ITT-OBS群体)的6MWD(米)平均变化。表31还总结了ITT-LOCF群体中受试者在第52周时6MWD变化的基于非参数随机化的协方差分析。图23B显示了通过就诊汇总统计的线图。

表31:通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和MMRM分析(ITT-OBS群体,不包括受试者4005-2511)的6MWD(米)变化总结-研究ATB200-03

	西帕葡糖苷酶 α/麦格司他（N = 85）		阿葡糖苷酶 α/安慰剂（N = 37）	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
基线 [a]				
n	85	--	37	--
均数（SD）	357.93 (111.843)	--	350.95 (121.322)	--
中位数（Q1，Q3）	359.50（298.90，418.50）	--	365.50（285.50，420.00）	--
Min，max	79.0, 575.0	--	112.5, 623.0	--
第 52 周-观察				
n	81	81	36	36
均数（SD）	376.41 (122.925)	20.56 (42.266)	359.70 (137.361)	8.02 (40.564)
中位数（Q1，Q3）	380.50（300.00，465.00）	12.50（-3.75，43.50）	371.75（262.50，457.50）	3.15（-21.75，22.78）
Min，max	79.6, 601.5	-59.5, 173.5	67.0, 648.6	-55.6, 127.0
第 52 周-LOCF				
n	85	85	37	37
均数（SD）	378.72 (123.348)	20.79 (42.773)	358.19 (135.750)	7.24 (40.277)
中位数（Q1，Q3）	380.50（300.00，473.00）	12.50（-6.90，43.50）	370.00（263.00，446.50）	1.40（-21.00，20.00）
Min，max	79.6, 601.5	-59.5, 173.5	67.0, 648.6	-55.6, 127.0
第 52 周时的 MMRM 参数估计和比较 [b]				
n	81		36	
LS 平均值（SE）	21.31 (4.649)		7.10 (7.043)	
LS 平均值的 95% CI	（12.10，30.53）		（-6.86，21.06）	
LS 平均值的差异（SE）（西帕葡糖苷酶 α/麦格司他 - 阿葡糖苷酶 α/安慰剂）			14.21 (8.481)	

	西帕葡糖苷酶α/麦格司他（N＝85）		阿葡糖苷酶α/安慰剂（N＝37）	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
差异的95% CI			（-2.60，31.02）	
2侧p值			0.097	
来自非参数ANCOVA的参数估计和比较[c]				
LS平均值（SE）的差异（西帕葡糖苷酶α- 阿葡糖苷酶α/安慰剂）			13.66 (7.564)	
差异的95% CI			（-1.17，28.48）	
2侧p值			0.071	

缩写:6MWD＝6分钟步行距离;ANCOVA＝协方差分析;CHG＝相对于基线的变化;CI＝置信区间;ERT＝酶替代疗法;ITT＝意向治疗;ITT-OBS＝意向治疗群体,包括第52周时所有可用的观察数据,没有任何缺失数据插补;LOCF＝末次观察推进法;LS＝最小二乘法;max＝最大值;min＝最小值;MMRM＝用于重复测量的混合效应模型;N＝每个治疗组中的受试者数量;n＝具有可用数据的受试者数量;Q1＝第一四分位数;Q3＝第三四分位数;SD＝标准偏差;SE＝标准误差

[a]基线是在第一次给药日期时或之前获得的最后2个值的平均值。

[b] MMRM方法(使用受限最大似然估计)用于分析。该模型包括以下项:治疗、基线6MWD、年龄、身高、体重(均为连续协变量)、ERT状态(ERT初治相比于经历过ERT)、性别、时间和治疗时间相互作用。时间被用作重复测量,并应用了非结构化协方差方法。

[c]治疗组之间的非参数ANCOVA比较,针对基线6MWD、年龄、身高、体重(均为连续协变量)、作为分层的ERT状态(ERT初治相比于经历过ERT)和性别进行调整。

次要终点:预测坐姿FVC％

[0523] 第一个关键次要终点是预测坐姿FVC％。在FVC方面,西帕葡糖苷酶α/麦格司他在总体群体中表现出名义上统计学上显著的改善,并且与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比具有临床意义的优势差异(p＝0.023)。西帕葡糖苷酶α/麦格司他显著减缓了用西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗的受试者的呼吸衰退速率,52周后这些受试者表现出0.9％的绝对衰退,而用阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗的受试者表现出4.0％的绝对衰退。

[0524] 表32总结了从基线到第52周通过就诊(ITT群体)的FVC平均变化和ANCOVA模型(对于正态分布数据)。图23B显示了通过就诊汇总统计的线图。

表32:通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和ANCOVA模型(ITT-LOCF群体)的预测坐姿FVC％变化总结-不包括受试者4005-2511-研究ATB200-03

	西帕葡糖苷酶 α/麦格司他（N = 85）		阿葡糖苷酶 α/安慰剂（N = 37）	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
基线[a]				
n	85		37	
均数（SD）	70.74 (19.573)		69.68 (21.475)	
中位数（Q1，Q3）	70.00 (56.00, 84.00)		71.00 (50.00, 89.00)	
Min，max	30.5, 132.5		31.5, 122.0	
第 52 周-LOCF				
n	84[b]	84	37	37
均数（SD）	69.81 (19.861)	-0.93（6.231）	65.73 (21.109)	-3.95（4.892）
中位数（Q1，Q3）	69.00 (57.00, 82.00)	-1.00（-5.00，4.00）	69.00 (49.00, 80.00)	-3.00（-6.50，0.00）
Min，max	30.0, 137.0	-17.0, 14.0	28.0, 108.0	-19.5, 2.0
第 52 周的 ANCOVA 参数估计和比较[c]				
n	84		37	
LS 平均值（SE）	-1.04（0.624）		-3.70（0.953）	
LS 平均值的 95% CI	（-2.28，0.19）		（-5.59，-1.81）	
LS 平均值的差异（SE）（西帕葡糖苷酶 α/麦格司他 - 阿葡糖苷酶 α/安慰剂）			2.66 (1.156)	
差异的 95% CI			（0.37，4.95）	
2 侧 p 值			0.023	

缩写:ANCOVA＝协方差分析;CHG＝相对于基线的变化;CI＝置信区间;ERT＝酶替代疗法;FVC＝用力肺活量;ITT＝意向治疗;LOCF＝末次观察推进法;LS＝最小二乘法;max＝最大值;min＝最小值;N＝每个治疗组中的受试者数量;n＝具有可用数据的受试者数量;Q1＝第一四分位数;Q3＝第三四分位数;SD＝标准偏差;SE＝标准误差

[a]基线是在第一次给药日期时或之前获得的最后2个值的平均值。

[b]对于预测FVC％(N＝84),受试者2301-1421的基线结果为70.5％,但随后由于不想前往站点而退出研究,因此被排除在分析之外。

[c]所有估计值均根据观察到的数据从ANCOVA模型中获得,包括以下项:治疗、基线预测坐姿FVC％、年龄、身高、体重(均为连续协变量)、ERT状态(ERT初治相比于经历过ERT)和性别

[0525] 还对6MWD和FVC的主要和关键次要终点进行了全局测试,不包括离群值受试者(表33)。该事后检验的结果进一步支持了西帕葡糖苷酶α/麦格司他对总体ITT群体中6MWD和FVC的治疗效果的显著性和一致性。

表33:基于6MWD和预测FVC％(不包括受试者4005-2511)秩和的Wilcoxon秩和检验-研究ATB200-03

治疗	N	得分的加和	平均得分	统计	Z-统计	2侧 p值[a]
阿葡糖苷酶α/安慰剂	37	1793.5	48.5	1794	-2.6	0.010
西帕葡糖苷酶α/麦格司他	84[b]	5587.5	66.5			

缩写:6MWD＝6分钟步行距离;FVC＝用力肺活量;N＝每个治疗组中的受试者数量;n＝具有可用数据的受试者数量

注意:该全局测试是通过以下方式进行的:将个别受试者分别对每个终点的应答(即,从基线到第52周的变化)按从最小改善到最大改善的顺序进行排序,将每个受试者的2个排序相加,并使用Wilcoxon秩和检验分析相加后的排序。

[a] P值来自使用t近似的Wilcoxon 2样品检验。

[b]对于预测FVC％(N＝84),受试者2301-1421的基线结果为70.5％,但随后由于不想前往站点而退出研究,因此被排除在分析之外。

MMT下肢得分

[0526] 在研究ATB200-03中,从基线到第52周,MMT下肢得分的平均(SD)变化显示,西帕葡糖苷酶α/麦格司他组的数值改善为1.6(3.78),而阿葡糖苷酶α/安慰剂组的数值改善为0.9(2.58),尽管在肌肉力量评估方面并未取得统计学优势(p＝0.191)。

[0527] 表34总结了通过从基线到第52周(ITT群体)就诊和ANCOVA模型(ITT-LOCF群体)的MMT下肢得分的变化。图28显示了通过就诊汇总统计的线图。

表34:通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和ANCOVA模型(ITT-LOCF群体)的MMT下肢得分变化总结-不包括受试者4005-2511-研究ATB200-03

	西帕葡糖苷酶α/麦格司他（N = 85）		阿葡糖苷酶α/安慰剂（N = 37）	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
基线[a]				
n	84		34	
均数（SD）	27.96 (5.757)		27.65 (6.169)	
中位数（Q1，Q3）	28.00 (24.00, 32.00)		28.00 (24.00, 32.00)	
Min，max	15.0, 39.0		14.0, 40.0	
第52周-LOCF				
n	80	80	34	34
均数（SD）	29.73 (6.042)	1.56 (3.783)	28.53 (6.999)	0.88 (2.579)
中位数（Q1，Q3）	30.00 (25.00, 35.00)	1.00 (0.00, 4.00)	29.00 (24.00, 34.00)	1.00 (0.00, 2.00)
Min，max	14.0, 40.0	-10.0, 18.0	10.0, 40.0	-5.0, 7.0
ANCOVA的参数估计和比较[b]				
n	80		34	
LS平均值（SE）	1.64 (0.388)		0.68 (0.603)	
LS平均值的95% CI	（0.87，2.41）		（-0.51，1.88）	
LS平均值的差异（SE）（西帕葡糖苷酶α/麦格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰剂）			0.96 (0.727)	
差异的95% CI			（-0.48，2.40）	
2侧p值			0.191	

缩写:ANCOVA＝协方差分析;CHG＝相对于基线的变化;CI＝置信区间;ERT＝酶替代疗法;ITT＝意向治疗;LOCF＝末次观察推进法;LS＝最小二乘法;max＝最大值;min＝最小值;MMT＝徒手肌力测试;N＝每个治疗组中的受试者数量;n＝具有可用数据的受试者数量;Q1＝第一四分位数;Q3＝第三四分位数;SD＝标准偏差;SE＝标准误差

注意:MMT下肢力量总得分包括以下8个身体部位:右/左髋关节屈曲、右/左髋关节外展、右/左膝关节屈曲和右/左膝关节伸展。MMT得分范围为0到40,得分越低表示肌肉力量越弱。

[a]基线是研究药物首个剂量施用前的最后一个非缺失值。

[b]所有估计值均来自ANCOVA模型,包括以下项:治疗、基线MMT下肢得分、年龄、身高、体重(均为连续协变量)、ERT状态(ERT初治相比于经历过ERT)和性别。

第26周时6MWD

[0528] 第26周的结果与第52周的结果基本一致。对于ANCOVA模型,LS平均治疗差异(95％CI)为8.17(-4.24,20.57)米,p值为0.195。

PROMIS-身体功能

[0529] 在研究ATB200-03中,PROMIS-身体功能总得分从基线到第52周的平均(SD)变化显示,与阿葡糖苷酶α/安慰剂组的0.2(10.82)相比,西帕葡糖苷酶α/麦格司他组平均改善了1.9(7.50)。PROMIS-身体功能显示,与接受阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗的受试者相比,接受西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗的受试者在数值上有更大的改善,但这些改善并未达到统计学优势(p=0.276)。

[0530] 表35总结了通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和ANCOVA模型(ITT-LOCF群体)的PROMIS-身体功能简表20a总得分平均变化,不包括受试者4005-2511。图30显示了通过就诊汇总统计的线图。

表35:通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和ANCOVA模型(ITT-LOCF群体)的PROMIS-身体功能简表20a变化总结-不包括受试者4005-2511-研究ATB200-03

	西帕葡糖苷酶 α/麦格司他 (N = 85)		阿葡糖苷酶 α/安慰剂 (N = 37)	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
基线[a]				
n	84		37	
均数 (SD)	66.86 (12.261)		67.97 (13.090)	
中位数 (Q1, Q3)	67.00 (60.00, 75.50)		67.00 (59.00, 74.00)	
Min, max	37.0, 96.0		44.0, 97.0	
第 52 周-LOCF				
n	84	84	37	37
均数 (SD)	68.80 (12.954)	1.94 (7.498)	68.16 (16.269)	0.19 (10.819)
中位数 (Q1, Q3)	68.00 (59.50, 77.00)	0.00 (-2.50, 6.00)	69.00 (56.00, 79.00)	-1.00 (-6.00, 4.00)
Min, max	36.0, 99.0	-14.0, 28.0	37.0, 97.0	-30.0, 30.0
第 52 周时的 ANCOVA 参数估计和比较[b]				
n	84		37	
LS 平均值 (SE)	1.98 (0.921)		0.11 (1.406)	
LS 平均值的 95% CI	(0.15, 3.80)		(-2.68, 2.89)	
LS 平均值的差异 (SE) (西帕葡糖苷酶 α/麦格司他 - 阿葡糖苷酶 α/安慰剂)			1.87 (1.706)	
差异的 95% CI			(-1.51, 5.25)	
2 侧 p 值			0.276	

缩写:ANCOVA=协方差分析;CI=置信区间;CHG=相对于基线的变化;ERT=酶替代疗法;ITT=意向治疗;LOCF=末次观察推进法;LS=最小二乘法;max=最大值;min=最小值;N=每个治疗组中的受试者数量;n=具有可用数据的受试者数量;PROMIS=患者报告

的结果测量信息系统;Q1＝第一四分位数;Q3＝第三四分位数;SD＝标准偏差;SE＝标准误差

注意:总得分范围为20至100,得分越高表示对身体功能的影响越小。

[a]基线是研究药物首个剂量施用前的最后一个非缺失值。

[b]所有估计值均来自ANCOVA模型,包括以下项:治疗、基线PROMIS-身体功能总得分、年龄、身高、体重(均为连续协变量)、ERT状态(ERT初治相比于经历过ERT)和性别。

PROMIS-疲劳

[0531] PROMIS-疲劳总得分从基线到第52周的平均(SD)变化显示,与阿葡糖苷酶α/安慰剂组的-1.9(0.90)相比,西帕葡糖苷酶α/麦格司他组平均改善了-1.9(0.59)。PROMIS-疲劳在接受西帕葡糖苷酶α/麦格司他和阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗的受试者之间显示出相似的改善(p＝0.970)。

[0532] 表36总结了对于ITT群体(不包括受试者4005-2511)通过就诊(ITT群体)和ANCOVA模型(ITT-LOCF群体)的PROMIS-疲劳总得分从基线到第52周的平均变化。图31显示了通过就诊汇总统计的线图。

表36:通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和ANCOVA模型总得分(ITT-LOCF群体)的PROMIS-疲劳简表8a变化总结-不包括受试者4005-2511-研究ATB200-03

	西帕葡糖苷酶 α/麦格司他 (N = 85)		阿葡糖苷酶 α/安慰剂 (N = 37)	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
基线[a]				
n	85		37	
均数 (SD)	22.26 (8.304)		21.08 (6.098)	
中位数 (Q1, Q3)	22.00 (16.00, 29.00)		21.00 (17.00, 24.00)	
Min, max	8.0, 40.0		8.0, 34.0	
第 52 周-LOCF				
n	85	85	37	37
均数 (SD)	20.24 (7.492)	-2.02 (5.763)	19.41 (6.735)	-1.67 (6.623)
中位数 (Q1, Q3)	19.00 (16.00, 26.00)	-1.00 (-5.00, 2.00)	18.00 (15.00, 24.00)	-1.00 (-5.00, 3.00)
Min, max	8.0, 40.0	-19.0, 12.0	8.0, 37.0	-21.0, 10.0
ANCOVA 的参数估计和比较[b]				
n	85		37	

	西帕葡糖苷酶α/麦格司他（N = 85）		阿葡糖苷酶α/安慰剂（N = 37）	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
LS 平均值（SE）	-1.90（0.585）		-1.94（0.901）	
LS 平均值的 95% CI	（-3.06，-0.74）		（-3.73，-0.15）	
LS 平均值的差异（SE）（西帕葡糖苷酶α/麦格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰剂）			0.04 (1.092)	
差异的 95% CI			（-2.12，2.20）	
2 侧 p 值			0.970	

缩写:ANCOVA＝协方差分析;CHG＝相对于基线的变化;CI＝置信区间;ERT＝酶替代疗法;ITT＝意向治疗;LOCF＝末次观察推进法;LS＝最小二乘法;max＝最大值;min＝最小值;N＝每个治疗组中的受试者数量;n＝具有可用数据的受试者数量;PROMIS＝患者报告的结果测量信息系统;Q1＝第一四分位数;Q3＝第三四分位数;SD＝标准偏差;SE＝标准误差

注意:如果基线后得分部分缺失但≥50％的项可用,则总得分计算为非缺失项的平均值乘以预期的项总数。

注意:总得分在8到40之间,得分越低表示疲劳影响越小,它是通过将所有8个项的得分(1到5)相加计算得出的。

[a]基线是研究药物首个剂量施用前的最后一个非缺失值。

[b]所有估计值均来自ANCOVA模型,包括以下项:治疗、基线PROMIS-疲劳总得分、年龄、身高、体重(均为连续协变量)、ERT状态(ERT初治相比于经历过ERT)和性别。

GSGC

[0533] 在研究ATB200-03中,GSGC总得分从基线到第52周的平均(SD)变化显示,与阿葡糖苷酶α/安慰剂组的0.77(1.81)相比,西帕葡糖苷酶α/麦格司他组平均改善了-0.53(2.54)。在总体群体中,与阿葡糖苷酶α相比,GSGC在使用西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗后表现出名义上的显著改善,p值为0.009。

[0534] 表37总结了对于ITT群体(不包括受试者4005-2511)通过就诊(ITT群体)和ANCOVA模型(ITT-LOCF群体)的GSGC总得分从基线到第52周的平均变化。图29显示了通过就诊汇总统计的线图。

表37:通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和ANCOVA模型(ITT-LOCF群体)的GSGC总得分变化总结-不包括受试者4005-2511-研究ATB200-03

	西帕葡糖苷酶α/麦格司他（N = 85）		阿葡糖苷酶α/安慰剂（N = 37）	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
基线[a]				
n	74		32	
均数（SD）	14.51 (5.171)		14.50 (4.718)	
中位数（Q1，Q3）	16.00 (12.00, 18.00)		16.00 (10.50, 18.00)	
Min，max	4.0, 24.0		4.0, 22.0	
第 52 周-LOCF				
n	72	72	30	30
均数（SD）	13.74 (5.371)	-0.53（2.542）	15.00 (4.488)	0.77 (1.813)
中位数（Q1，Q3）	15.00 (9.50, 18.00)	0.00 (-2.00, 1.00)	16.00 (13.00, 18.00)	0.50 (0.00, 2.00)
Min，max	4.0, 24.0	-8.0, 4.0	5.0, 22.0	-4.0, 5.0
ANCOVA 的参数估计和比较[b]				
n	72		30	
LS 平均值（SE）	-0.567（0.280）		0.847 (0.440)	
LS 平均值的 95% CI	（-1.123，-0.010）		（-0.026，1.720）	
LS 平均值的差异（SE）（西帕葡糖苷酶α/麦格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰剂）			-1.414（0.528）	
差异的 95% CI			（-2.463，-0.364）	
2 侧 p 值			0.009	

缩写:ANCOVA＝协方差分析;CHG＝相对于基线的变化;CI＝置信区间;ERT＝酶替代疗法;GSGC＝步态、楼梯、高尔斯动作和椅子测试;ITT＝意向治疗;LOCF＝末次观察推进法;LS＝最小二乘法;max＝最大值;min＝最小值;N＝每个治疗组中的受试者数量;n＝具有可用数据的受试者数量;Q1＝第一四分位数;Q3＝第三四分位数;SD＝标准偏差;SE＝标准误差

注意:步态得分基于10米步行测试;楼梯得分基于受试者爬楼梯;高尔斯动作得分基于受试者躺在地板上,然后从地板上站起来达到站立位置;椅子得分基于受试者从椅子上的坐姿到站姿。

注意:GSGC总得分是4项测试的加和,范围从最低4分(正常表现)到最高27分(最差得分)。

注意:LS平均值和SE是从ANCOVA模型获得的。

[a]基线是研究药物首个剂量施用前的最后一个非缺失值。

[b]所有估计值均来自ANCOVA模型,包括以下项:治疗、基线GSGC总得分、年龄、身高、体重(均为连续协变量)、ERT状态(ERT初治相比于经历过ERT)和性别。

[0535] 在排除受试者4005-2511的ITT群体中,与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比,从基线到第52周的GSGC的计时成分的绝对值明显有利于西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗。

经历过ERT的群体

[0536] 应该指出的是,离群值受试者(受试者4005-2511)是在ERT初治群体中。因此,对经历过ERT的群体的结果没有受到影响。

主要终点:第52周时6MWD

[0537] 在经历过ERT的群体(n＝95)中,6MWD(米)从基线到第52周的平均(SD)变化显示,与阿葡糖苷酶α/安慰剂组的0.7(39.84)米相比,西帕葡糖苷酶α/麦格司他组平均改善了16.3(39.46)米。因此,用西帕葡糖苷酶α治疗的经历过ERT的受试者在6MWD中随着时间的推移表现出改善,直至52周。

[0538] 对于使用受限最大似然估计的MMRM分析,LS平均治疗差异(95％ CI)为16.45％(-1.86,34.77),名义上的p值为0.078(表38)。

[0539] 与排除离群值的ITT群体类似,基于诊断图和Shapiro-Wilk检验(Shapiro-Wilk检验p值<0.01)的检查,MMRM分析的正态性假设也被违反。因此,基于非参数随机化的ANCOVA按预先计划进行,其产生的名义上的p值为0.047。图25显示了通过就诊汇总统计的线图。

表38:通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和MMRM分析(ITT-OBS群体)的6MWD(米)变化总结-经历过ERT的群体-研究ATB200-03

	西帕葡糖苷酶 α/麦格司他（N = 65）		阿葡糖苷酶 α/安慰剂（N = 30）	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
基线[a]				
n	65		30	
均数（SD）	346.94 (110.213)		334.62 (114.023)	
中位数（Q1，Q3）	352.50（294.50，403.00）		343.50（260.60，420.00）	
Min，max	79.0, 557.5		112.5, 532.3	
第 52 周-观察				
n	61	61	29	29
均数（SD）	359.79 (122.494)	16.34 (39.462)	335.66 (131.666)	0.70 (39.841)
中位数（Q1，Q3）	360.50（296.00，428.00）	9.65（-7.90，41.00）	348.00（250.40，438.60）	-8.65（-24.40，17.35）
Min，max	79.6, 601.5	-57.1, 173.5	67.0, 576.0	-55.6, 127.0
第 52 周-LOCF				
n	65	65	30	30
均数（SD）	363.83 (123.522)	16.89 (40.393)	334.60 (129.506)	-0.02（39.345）
中位数（Q1，Q3）	363.50（296.00，435.00）	9.65（-7.90，41.00）	339.03（250.40，438.60）	-8.93（-24.40，17.35）
Min，max	79.6, 601.5	-57.1, 173.5	67.0, 576.0	-55.6, 127.0
MMRM 的参数估计和比较[b]				
n	61		29	
LS 平均值（SE）	17.04 (5.151)		0.59 (7.569)	
LS 平均值的 95% CI	（6.79，27.29）		（-14.5，15.65）	
LS 平均值的差异（SE）（西帕葡糖苷酶 α/麦格司他 - 阿葡糖苷酶 α/安慰剂）			16.45 (9.209)	
差异的 95% CI			（-1.86，34.77）	

	西帕葡糖苷酶α/麦格司他 (N=65)		阿葡糖苷酶α/安慰剂 (N=30)	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
2侧p值			0.078	
来自非参数ANCOVA的参数估计和比较[c]				
LS平均值(SE)的差异 (西帕葡糖苷酶α-阿葡糖苷酶α/安慰剂)			16.76 (8.433)	
差异的95% CI			(0.24, 33.29)	
2侧p值			0.047	

缩写:6MWD=6分钟步行距离;ANCOVA=协方差分析;CHG=相对于基线的变化;CI=置信区间;ERT=酶替代疗法;ITT=意向治疗;ITT-OBS=意向治疗群体,包括第52周时所有可用的观察数据,没有任何缺失数据插补;LOCF=末次观察推进法;LS=最小二乘法;max=最大值;min=最小值;MMRM=用于重复测量的混合效应模型;N=每个治疗组中的受试者数量;n=具有可用数据的受试者数量;Q1=第一四分位数;Q3=第三四分位数;SD=标准偏差;SE=标准误差

[a]基线是在第一次给药日期时或之前获得的最后2个值的平均值。

[b] MMRM方法(使用受限最大似然估计)用于分析。该模型包括以下项:治疗、基线6MWD、年龄、身高、体重(均为连续协变量)、性别、时间和治疗时间相互作用。时间被用作重复测量,并应用了非结构化协方差方法。

[c]治疗组之间的非参数ANCOVA比较,针对基线6MWD、年龄、身高、体重(均为连续协变量)和性别进行调整。

预测坐姿FVC%

[0540] 在经历过ERT的亚组中,西帕葡糖苷酶α/麦格司他表现出名义上统计学上显著的改善,并且与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比具有临床意义的优势差异(p=0.006)。西帕葡糖苷酶α/麦格司他略微改善了用西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗的受试者的呼吸衰退速率,52周后这些受试者表现出0.1%的绝对增加,而用阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗的受试者表现出4.0%的绝对衰退。

[0541] 表39总结了经历过ERT的受试者从基线到第52周的通过就诊的预测FVC%的平均变化和LS平均治疗差异(对于正态分布数据,使用ANCOVA)。图25显示了通过就诊汇总统计的线图。

表39:通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和ANCOVA模型(ITT-LOCF群体)的预测坐姿FVC%变化总结-经历过ERT的群体-研究ATB200-03

	西帕葡糖苷酶α/麦格司他（N＝65）		阿葡糖苷酶α/安慰剂（N＝30）	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
基线[a]				
n	65		30	
均数（SD）	67.85 (19.052)		67.48 (20.993)	
中位数（Q1，Q3）	68.00 (54.50, 81.00)		69.00 (50.00, 81.50)	
Min，max	30.5, 132.5		31.5, 122.0	
第52周-LOCF				
n	64	64	30	30
均数（SD）	67.86 (19.777)	0.05 (5.843)	63.47 (20.480)	-4.02（5.009）
中位数（Q1，Q3）	67.50 (54.50, 79.50)	0.50 (-4.50, 4.00)	62.00 (49.00, 76.00)	-3.25(-7.00, 0.00)
Min，max	30.0, 137.0	-17.0, 14.0	28.0, 108.0	-19.5, 2.0
ANCOVA的参数估计和比较				
n	64		30	
LS平均值（SE）	-0.12（0.688）		-3.64（1.019）	
LS平均值的95% CI	（-1.49，1.24）		（-5.66，-1.61）	
LS平均值的差异（SE）（西帕葡糖苷酶α/麦格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰剂）			3.51 (1.250)	
差异的95% CI			（1.03，5.99）	
2侧p值			0.006	

缩写:ANCOVA＝协方差分析;CHG＝相对于基线的变化;CI＝置信区间;ERT＝酶替代疗法;FVC＝用力肺活量;ITT＝意向治疗;LOCF＝末次观察推进法;LS＝最小二乘法;max＝最大值;min＝最小值;N＝每个治疗组中的受试者数量;n＝具有可用数据的受试者数量;Q1＝第一四分位数;Q3＝第三四分位数;SD＝标准偏差;SE＝标准误差

注意:所有估计值均来自ANCOVA模型,包括以下项:治疗、基线预测坐姿FVC％、年龄、身高、体重(均为连续协变量)和性别。

[a]基线是在第一次给药日期时或之前获得的最后2个值的平均值。

MMT下肢得分

[0542] MMT下肢得分从基线到第52周的平均(SD)变化显示,与阿葡糖苷酶α/安慰剂组的0.9(2.81)相比,西帕葡糖苷酶α/麦格司他组改善了1.6(4.13)。与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比,两个治疗组的MMT下肢得分结果均显示改善并且定向有利于西帕葡糖苷酶α/麦格司他(p＝0.436)。

[0543] 表40总结了对于经历过ERT的群体,通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和ANCOVA模型(ITT-LOCF群体)的MMT下肢得分的平均变化。图28显示了通过就诊汇总统计的

线图。

表40:通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和ANCOVA模型(ITT-LOCF群体)的MMT下肢得分变化总结-经历过ERT的群体-研究ATB200-03

	西帕葡糖苷酶 α/麦格司他 (N = 65)		阿葡糖苷酶 α/安慰剂 (N = 30)	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
基线[a]				
n	64		27	
均数（SD）	26.38 (5.144)		26.11 (5.813)	
中位数（Q1，Q3）	26.00 (23.50, 30.00)		26.00 (23.00, 29.00)	
Min，max	15.0, 39.0		14.0, 40.0	
第 52 周-LOCF				
n	60	60	27	27
均数（SD）	28.18 (5.589)	1.63 (4.129)	26.96 (6.802)	0.85 (2.811)
中位数（Q1，Q3）	28.00 (24.00, 32.50)	1.00 (0.00, 4.00)	28.00 (22.00, 32.00)	1.00 (0.00, 3.00)
Min，max	14.0, 40.0	-10.0, 18.0	10.0, 40.0	-5.0, 7.0
ANCOVA 的参数估计和比较[b]				
n	60		27	
LS 平均值（SE）	1.60 (0.486)		0.90 (0.735)	

	西帕葡糖苷酶 α/麦格司他 (N = 65)		阿葡糖苷酶 α/安慰剂 (N = 30)	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
LS 平均值的 95% CI	（0.64，2.57）		（-0.56，2.36）	
LS 平均值的差异（SE）（西帕葡糖苷酶 α/麦格司他 - 阿葡糖苷酶 α/安慰剂）			0.70 (0.896)	
差异的 95% CI			（-1.08，2.49）	
2 侧 p 值			0.436	

缩写:ANCOVA＝协方差分析;CHG＝相对于基线的变化;CI＝置信区间;ERT＝酶替代疗法;ITT＝意向治疗;LOCF＝末次观察推进法;LS＝最小二乘法;max＝最大值;min＝最小值;MMT＝徒手肌力测试;N＝每个治疗组中的受试者数量;n＝具有可用数据的受试者数量;Q1＝第一四分位数;Q3＝第三四分位数;SD＝标准偏差;SE＝标准误差

注意:下肢总得分包括以下8个身体部位:右/左髋关节屈曲、右/左髋关节外展、右/左膝关节屈曲和右/左膝关节伸展。得分范围为0到40,得分越低表示肌肉力量越弱。

[a]基线是研究药物首个剂量施用前的非缺失值。

[b]所有估计值均来自ANCOVA模型,包括以下项:治疗、基线MMT下肢得分、年龄、身高、体重(均为连续协变量)和性别。

[0544] 对于经历过ERT的受试者,从基线到第26周的6MWD变化结果与第52周的结果基本一致。对于ANCOVA模型,LS平均治疗差异(95% CI)为9.62米(-3.82,23.06),p值为0.158。

PROMIS-身体功能

[0545] PROMIS-身体功能总得分从基线到第52周的平均(SD)变化显示,与阿葡糖苷酶α/安慰剂组的1.0(11.20)相比,西帕葡糖苷酶α/麦格司他组平均改善了1.8(7.18)。与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比,PROMIS-身体功能量表的结果显示改善并且定向有利于西帕葡糖苷酶α/麦格司他(p=0.110)。

[0546] 表41总结了对于经历过ERT的群体,通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和ANCOVA模型(ITT-LOCF群体)的PROMIS-身体功能总得分的平均变化。图30显示了通过就诊汇总统计的线图。

表41:通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和ANCOVA模型(ITT-LOCF群体)的PROMIS-身体功能简表20a变化总结-经历过ERT的群体-研究ATB200-03

	西帕葡糖苷酶 α/麦格司他（N = 65）		阿葡糖苷酶 α/安慰剂（N = 30）	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
基线[a]				
n	64		30	
均数（SD）	64.43 (11.379)		66.87 (12.286)	
中位数（Q1，Q3）	64.50 (58.00, 71.00)		67.00 (59.00, 73.00)	
Min，max	37.0, 94.0		44.0, 97.0	
第 52 周-LOCF				
n	64	64	30	30
均数（SD）	66.19 (12.325)	1.76 (7.179)	65.90 (15.790)	-0.97（11.196）
中位数（Q1，Q3）	66.00 (58.00, 74.00)	0.50 (-2.00, 6.00)	66.00 (56.00, 75.00)	-2.00（-6.00, 3.00）
Min，max	36.0, 99.0	-14.0, 26.0	37.0, 97.0	-30.0, 30.0
ANCOVA 的参数估计和比较[b]				
n	64		30	
LS 平均值（SE）	1.90 (1.071)		-1.25（1.587）	
LS 平均值的 95% CI	（-0.23，4.02）		（-4.40，1.91）	
LS 平均值的差异（SE）（西帕葡糖苷酶 α/麦格司他 - 阿葡糖苷酶 α/安慰剂）			3.14 (1.948)	
差异的 95% CI			（-0.73，7.02）	
2 侧 p 值			0.110	

缩写:ANCOVA＝协方差分析;CHG＝相对于基线的变化;CI＝置信区间;ERT＝酶替代疗法;ITT＝意向治疗;LOCF＝末次观察推进法;LS＝最小二乘法;max＝最大值;min＝最小值;N＝每个治疗组中的受试者数量;n＝具有可用数据的受试者数量;PROMIS＝患者报告的结果测量信息系统;Q1＝第一四分位数;Q3＝第三四分位数;SD＝标准偏差;SE＝标准误差

注意:总得分范围为20至100,得分越高表示对身体功能的影响越小。

[a]基线是研究药物首个剂量施用前的最后一个非缺失值。

[b]所有估计值均来自ANCOVA模型,包括以下项:治疗、基线PROMIS-身体功能总得分、年龄、身高、体重(均为连续协变量)和性别。

PROMIS-疲劳

[0547] PROMIS-疲劳总得分从基线到第52周的平均(SD)变化显示,与阿葡糖苷酶α/安慰剂组的-0.5(5.72)相比,西帕葡糖苷酶α/麦格司他组平均改善了-0.1(5.99)。PROMIS-疲劳得分显示有所改善,但在用西帕葡糖苷酶α/麦格司他和阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗的受试者

之间,它们的改善相似(p=0.476)。

[0548] 表42总结了对于经历过ERT的群体,通过就诊(ITT群体)和ANCOVA模型(ITT-LOCF群体)的PROMIS-疲劳总得分从基线到第52周的平均变化。图31显示了通过就诊汇总统计的线图。

表42:通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和ANCOVA模型(ITT-LOCF群体)的PROMIS-疲劳简表8a总得分变化总结-经历过ERT的群体-研究ATB200-03

	西帕葡糖苷酶 α/麦格司他 (N = 65)		阿葡糖苷酶 α/安慰剂 (N = 30)	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
基线 [a]				
n	65		30	
均数 (SD)	22.00 (7.924)		20.37 (5.379)	
中位数 (Q1, Q3)	23.00 (16.00, 29.00)		20.00 (17.00, 23.00)	
Min, max	8.0, 39.0		8.0, 32.0	
第 52 周-LOCF				
n	65	65	30	30
均数 (SD)	21.86 (7.888)	-0.14 (5.986)	19.87 (6.882)	-0.50 (5.722)
中位数 (Q1, Q3)	22.00 (17.00, 28.00)	0.00 (-4.00, 3.00)	18.00 (16.00, 24.00)	0.50 (-5.00, 3.00)

	西帕葡糖苷酶 α/麦格司他 (N = 65)		阿葡糖苷酶 α/安慰剂 (N = 30)	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
Min, max	8.0, 39.0	-16.0, 19.0	8.0, 38.0	-11.0, 11.0
ANCOVA 的参数估计和比较 [b]				
n	65		30	
LS 平均值 (SE)	-1.63 (0.637)		-0.79 (0.953)	
LS 平均值的 95% CI	(-2.89, -0.36)		(-2.68, 1.10)	
LS 平均值的差异 (SE) (西帕葡糖苷酶 α/麦格司他 - 阿葡糖苷酶 α/安慰剂)			-0.84 (1.169)	
差异的 95% CI			(-3.16, 1.49)	
2 侧 p 值			0.476	

缩写:ANCOVA=协方差分析;CHG=相对于基线的变化;CI=置信区间;ERT=酶替代疗法;ITT=意向治疗;LOCF=末次观察推进法;LS=最小二乘法;max=最大值;min=最小值;N=每个治疗组中的受试者数量;n=具有可用数据的受试者数量;PROMIS=患者报告的结果测量信息系统;Q1=第一四分位数;Q3=第三四分位数;SD=标准偏差;SE=标准误

差

注意:总得分在8到40之间,得分越低表示疲劳影响越小,它是通过将所有8个项的得分(1到5)相加计算得出的。

[a]基线是研究药物首个剂量施用前的最后一个非缺失值。

[b]所有估计值均来自ANCOVA模型,包括以下项:治疗、基线PROMIS-疲劳总得分、年龄、身高、体重(均为连续协变量)和性别。

GSGC

[0549] GSGC总得分从基线到第52周的平均(SD)变化显示,与阿葡糖苷酶α/安慰剂组的0.6(1.83)相比,西帕葡糖苷酶α/麦格司他组平均改善了-0.5(2.53)。与总体群体相似,与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比,GSGC在使用西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗后表现出名义上的显著改善(p=0.050)。

[0550] 表43总结了对于经历过ERT的群体,通过就诊(ITT群体)和ANCOVA模型(ITT-LOCF群体)的GSGC总得分从基线到第52周的平均变化。图29显示了通过就诊汇总统计的线图。

表43:通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和ANCOVA模型(ITT-LOCF群体)的GSGC总得分变化总结-经历过ERT的群体-研究ATB200-03

	西帕葡糖苷酶 α/麦格司他（N = 55）		阿葡糖苷酶 α/安慰剂（N = 25）	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
基线[a]				
n	55		25	
均数（SD）	15.61 (4.073)		15.52 (4.350)	
中位数（Q1，Q3）	16.00 (13.00, 18.00)		17.00 (14.00, 18.00)	
Min，max	6.0, 24.0		4.0, 22.0	
第 52 周-LOCF				
n	54	54	23	23
均数（SD）	14.96 (4.809)	-0.53（2.534）	15.87 (4.170)	0.61 (1.828)
中位数（Q1，Q3）	17.00 (11.00, 19.00)	0.00 (-2.00, 1.00)	17.00 (14.00, 18.00)	0.00 (0.00, 2.00)
Min，max	4.0, 24.0	-7.0, 4.0	5.0, 22.0	-4.0, 5.0
ANCOVA 的参数估计和比较[b]				
n	54		23	
LS 平均值（SE）	-0.54（0.318）		0.65 (0.494)	
LS 平均值的 95% CI	（-1.18，0.09）		（-0.34，1.63）	
LS 平均值的差异（SE）（西帕葡糖苷酶 α/麦格司他 - 阿葡糖苷酶 α/安慰剂）			-1.19（0.596）	
差异的 95% CI			（-2.38，-0.00）	
2 侧 p 值			0.050	

缩写:ANCOVA＝协方差分析;CHG＝相对于基线的变化;CI＝置信区间;ERT＝酶替代疗法;GSGC＝步态、楼梯、高尔斯动作和椅子测试;ITT＝意向治疗;LOCF＝末次观察推进法;LS＝最小二乘法;N＝每个治疗组中的受试者数量;n＝具有可用数据的受试者数量;max＝最大值;min＝最小值;Q1＝第一四分位数;Q3＝第三四分位数;SD＝标准偏差;SE＝标准误差

注意:步态得分基于10米步行测试;楼梯得分基于受试者爬楼梯;高尔斯动作得分基于受试者躺在地板上,然后从地板上站起来达到站立位置;椅子得分基于受试者从椅子上的坐姿到站姿。GSGC总得分是4项测试的加和,范围从最低4分(正常表现)到最高27分(最差得分)。

[a]基线是研究药物首个剂量施用前的最后一个非缺失值。

[b]所有估计值均来自ANCOVA模型,包括以下项:治疗、基线GSGC总得分、年龄、身高、体重(均为连续协变量)和性别。

ERT初治群体(不包括受试者4005-2511)

主要终点:第52周时6MWD

[0551] 6MWD从基线到第52周的平均(SD)变化显示,与阿葡糖苷酶α/安慰剂组的38.3(29.32)米相比,西帕葡糖苷酶α/麦格司他组平均改善了33.4(48.70)米。在ERT初治群体(n=27)中,两个治疗组的受试者在第52周时均显示6MWD有所改善(p=0.748)。

[0552] 表44总结了对于不包括受试者4005-2511的ERT初治群体,通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和MMRM分析(ITT-OBS群体)的6MWD平均变化。图26B显示了通过就诊汇总统计的线图,包括受试者4005-2511。

表44:通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和MMRM分析(ITT-OBS群体)的6MWD(米)变化总结-不包括受试者4005-2511的ERT初治群体-研究ATB200-03

	西帕葡糖苷酶 α/麦格司他 (N = 20)		阿葡糖苷酶 α/安慰剂 (N = 7)	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
基线 [a]				
n	20		7	
均数 (SD)	393.64 (112.388)		420.94 (135.749)	
中位数 (Q1, Q3)	375.15 (329.50, 498.75)		385.50 (351.40, 522.65)	
Min, max	154.0, 575.0		201.0, 623.0	
第 52 周-观察				
n	20	20	7	7

	西帕葡糖苷酶 α/麦格司他（N = 20）		阿葡糖苷酶 α/安慰剂（N = 7）	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
均数（SD）	427.09 (112.473)	33.44 (48.704)	459.28 (121.657)	38.34 (29.315)
中位数（Q1，Q3）	452 （348.75，505.65）	24.00 （-0.00，69.73）	446.50 （370.00，570.65）	33.50 （18.60，63.50）
Min，max	166.5, 599.3	-59.5, 120.0	284.5, 648.6	-4.3, 83.5
第 52 周-LOCF				
n	20	20	7	7
均数（SD）	427.09 (112.473)	33.44 (48.704)	459.28 (121.657)	38.34 (29.315)
中位数（Q1，Q3）	452.58 （348.75，505.65）	24.00 （-0.00，69.73）	446.50 （370.00，570.65）	33.50 （18.60，63.50）
Min，max	166.5, 599.3	-59.5, 120.0	284.5, 648.6	-4.3, 83.5
MMRM 的参数估计和比较 [b]				
n	20		7	
LS 平均值（SE）	32.92 (9.912)		39.47 (17.15)	
LS 平均值的 95% CI	（12.40，53.44）		（4.08，74.87）	
LS 平均值的差异（SE）（西帕葡糖苷酶 α/麦格司他 - 阿葡糖苷酶 α/安慰剂）			-6.55（20.207）	
差异的 95% CI			（-48.19，35.08）	
2 侧 p 值			0.748	

缩写:6MWD＝6分钟步行距离;CHG＝相对于基线的变化;CI＝置信区间;ERT＝酶替代疗法;ITT＝意向治疗;ITT-OBS＝意向治疗群体,包括第52周时所有可用的观察数据,没有任何缺失数据插补;LOCF＝末次观察推进法;LS＝最小二乘法;max＝最大值;min＝最小值;MMRM＝用于重复测量的混合效应模型;N＝每个治疗组中的受试者数量;n＝具有可用数据的受试者数量;Q1＝第一四分位数;Q3＝第三四分位数;SD＝标准偏差;SE＝标准误差

[a]基线是在第一次给药日期时或之前获得的最后2个值的平均值。

[b] MMRM方法(使用受限最大似然估计)用于分析。该模型包括以下项:治疗、基线6MWD、年龄、身高、体重(均为连续协变量)、性别、时间和治疗时间相互作用。时间被用作重复测量,并应用了非结构化协方差方法。

[0553] 对于不包括受试者4005-2511的ERT初治群体,基于诊断图和Shapiro-Wilk检验的检查,MMRM分析的正态性假设也被违反。鉴于小样品量和治疗组之间基线特征(例如性别)的差异,非参数Wilcoxon秩和检验是事后进行的。

[0554] 表45显示了使用ITT-LOCF群体对ERT初治群体(不包括受试者4005-2511)在第52周时6MWD变化的非参数Wilcoxon秩和检验的结果。对于此检验,位置偏移(位置偏移的95％CI)为-9.0(-46.50,34.95),p值为0.604。

表45:第52周6MWD(米)相对于基线的变化的非参数Wilcoxon秩和检验(ITT-LOCF群体)—不包括受试者4005-2511的ERT初治群体—研究ATB200-03

非参数 Wilcoxon 秩和检验的参数估计和比较[a]	西帕葡糖苷酶 α/麦格司他 (N = 20)	阿葡糖苷酶 α/安慰剂 (N = 7)
n	20	7
位置偏移（渐近 SE）		-9.00（20.778）
位置偏移的 95% CI		（-46.50，34.95）
2 侧 p 值		0.604

缩写:6MWD=6分钟步行距离;CI=置信区间;ERT=酶替代疗法;ITT=意向治疗;LOCF=末次观察推进法;N=每个治疗组中的受试者数量;n=具有可用数据的受试者数量;SE=标准误差

[a]位置偏移、渐近SE和95% CI来自Hodges-Lehmann估计。P值来自使用t近似的Wilcoxon 2样品检验。

预测坐姿FVC%

[0555] 从基线到第52周,预测坐姿FVC%的平均(SD)变化对于西帕葡糖苷酶α/麦格司他组为-4.1%(6.53%),对于阿葡糖苷酶α/安慰剂组为-3.6%(4.71%)。使用正态分布数据的ANCOVA模型,LS平均治疗差异(95% CI)为-1.95(-8.93,5.03),p值为0.566。

[0556] 表46总结了对于不包括受试者4005-2511的ERT初治群体,通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和LS平均治疗差异(正态分布数据的ANCOVA)(ITT-LOCF群体)的预测坐姿FVC%的平均变化。图26B显示了通过就诊汇总统计的线图,包括受试者4005-2511。

表46:通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和ANCOVA(ITT-LOCF群体)的预测坐姿FVC%变化总结-不包括受试者4005-2511的ERT初治群体-研究ATB200-03

	西帕葡糖苷酶α/麦格司他（N＝20）		阿葡糖苷酶α/安慰剂（N＝7）	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
基线[a]				
n	20		7	
均数（SD）	80.15 (18.689)		79.07 (22.578)	
中位数（Q1，Q3）	82.25 (62.00, 94.75)		93.50 (49.50, 96.00)	
Min，max	48.0, 111.0		46.5, 98.0	
第52周-LOCF				
n	20	20	7	7
均数（SD）	76.05 (19.300)	-4.10（6.526）	75.43 (22.604)	-3.64（4.706）
中位数（Q1，Q3）	77.00 (61.50, 91.00)	-4.50（-9.25，-1.00）	85.00 (45.00, 93.00)	-3.00（-4.50, -1.00）
Min，max	36.0, 104.0	-12.5, 10.0	42.0, 94.0	-13.0, 2.0
ANCOVA的参数估计和比较[b]				
n	20		7	
LS平均值（SE）	-4.49（1.490）		-2.54（2.758）	
LS平均值的95% CI	（-7.59，-1.38）		（-8.29，3.22）	
LS平均值的差异（SE）（西帕葡糖苷酶α/麦格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰剂）			-1.95（3.346）	
差异的95% CI			（-8.93，5.03）	
2侧p值			0.566	

缩写:ANCOVA＝协方差分析;CHG＝相对于基线的变化;CI＝置信区间;ERT＝酶替代疗法;FVC＝用力肺活量ITT＝意向治疗;LOCF＝末次观察推进法;LS＝最小二乘法;max＝最大值;min＝最小值;N＝每个治疗组中的受试者数量;n＝具有可用数据的受试者数量;Q1＝第一四分位数;Q3＝第三四分位数;SD＝标准偏差;SE＝标准误差

[a]基线是在第一次给药日期时或之前获得的最后2个值的平均值。

[b]所有估计值均来自ANCOVA模型,包括以下项:治疗、基线预测坐姿FVC％、年龄、身高、体重(均为连续协变量)和性别。

MMT下肢得分

[0557] MMT下肢得分从基线到第52周的平均(SD)变化显示,与阿葡糖苷酶α/安慰剂组的1.0(1.53)相比,西帕葡糖苷酶α/麦格司他组改善了1.4(2.55)(p＝0.534)。

[0558] 表47总结了对于不包括受试者4005-2511的ERT初治群体,通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和ANCOVA模型(ITT-LOCF群体)的MMT下肢得分的平均变化。图81显示了通过就诊汇总统计的线图。

表47:通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和ANCOVA模型(ITT-LOCF群体)的MMT

下肢得分变化总结—不包括受试者4005-2511的ERT初治群体—研究ATB200-03

	西帕葡糖苷酶α/麦格司他（N = 20）		阿葡糖苷酶α/安慰剂（N = 7）	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
基线[a]				
n	20		7	
均数（SD）	33.00 (4.686)		33.57 (3.359)	
中位数（Q1，Q3）	34.50 (30.00, 36.00)		32.00 (30.00, 37.00)	
Min，max	22.0, 39.0		30.0, 38.0	
第 52 周-LOCF				
n	20	20	7	7
均数（SD）	34.35 (4.977)	1.36 (2.554)	34.57 (3.910)	1.00 (1.528)
中位数（Q1，Q3）	36.00 (30.00, 38.00)	1.00 (0.00, 2.00)	34.00 (32.00, 37.00)	2.00 (0.00, 2.00)
Min，max	25.0, 40.0	-2.0, 7.0	28.0, 40.0	-2.0, 2.0
ANCOVA 的参数估计和比较[b]				
n	20		7	
LS 平均值（SE）	1.46 (0.547)		0.69 (1.013)	

	西帕葡糖苷酶α/麦格司他（N = 20）		阿葡糖苷酶α/安慰剂（N = 7）	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
LS 平均值的 95% CI	（0.32，2.61）		（-1.43，2.80）	
LS 平均值的差异（SE）（西帕葡糖苷酶α/麦格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰剂）			0.78 (1.230)	
差异的 95% CI			（-1.79，3.34）	
2 侧 p 值			0.534	

缩写:ANCOVA＝协方差分析;CHG＝相对于基线的变化;CI＝置信区间;ERT＝酶替代疗法;ITT＝意向治疗;LOCF＝末次观察推进法;LS＝最小二乘法;max＝最大值;min＝最小值;MMT＝徒手肌力测试;N＝每个治疗组中的受试者数量;n＝具有可用数据的受试者数量;Q1＝第一四分位数;Q3＝第三四分位数;SD＝标准偏差;SE＝标准误差

[a]基线是第一次给药日期之前的最后一个非缺失值。

[b]所有估计值均来自ANCOVA模型,包括以下项:治疗、基线MMT下肢得分、年龄、身高、体重(均为连续协变量)和性别。

第26周时6MWD

[0559] 对于不包括受试者4005-2511的ERT初治群体,从基线到第26周的6MWD(米)变化结

果与第52周的结果基本一致。对于ANCOVA模型,LS平均治疗差异(95% CI)为-10.38米(-49.27,28.51),p值为0.584。

PROMIS-身体功能

[0560] PROMIS-身体功能总得分从基线到第52周的平均(SD)变化显示,与阿葡糖苷酶α/安慰剂组的5.1(7.82)相比,西帕葡糖苷酶α/麦格司他组平均改善了2.5(8.62)。相比于西帕葡糖苷酶α/麦格司他,两个治疗组的PROMIS-身体功能评分结果均显示改善并且定向有利于阿葡糖苷酶α/安慰剂(p=0.249)。

[0561] 表48总结了对于不包括受试者4005-2511的ERT初治群体,通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和ANCOVA模型(ITT-OBS群体)的PROMIS-身体功能总得分的平均变化。图82显示了通过就诊汇总统计的线图。

表48:通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和ANCOVA模型(ITT-LOCF群体)的PROMIS-身体功能简表20a变化总结—不包括受试者4005-2511的ERT初治受试者—研究ATB200-03

	西帕葡糖苷酶 α/麦格司他 (N = 20)		阿葡糖苷酶 α/安慰剂 (N = 7)	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
基线[a]				
n	20		7	
均数 (SD)	74.65 (11.984)		72.71 (16.317)	
中位数 (Q1, Q3)	76.00 (67.00, 83.00)		67.00 (56.00, 91.00)	
Min, max	50.0, 96.0		53.0, 93.0	
第 52 周-LOCF				
n	20	20	7	7
均数 (SD)	77.15 (11.536)	2.50 (8.618)	77.86 (15.742)	5.14 (7.819)
中位数 (Q1, Q3)	77.50 (68.50, 87.50)	0.00 (-3.00, 7.50)	80.00 (69.00, 91.00)	5.00 (-1.00, 13.00)
Min, max	56.0, 95.0	-8.0, 28.0	50.0, 94.0	-6.0, 16.0
ANCOVA 的参数估计和比较[b]				
n	20		7	
LS 平均值 (SE)	1.87 (1.917)		6.96 (3.539)	
LS 平均值的 95% CI	(-2.13, 5.86)		(-0.43, 14.34)	
LS 平均值的差异 (SE) (西帕葡糖苷酶 α/麦格司他 - 阿葡糖苷酶 α/安慰剂)			-5.09 (4.288)	
差异的 95% CI			(-14.04, 3.85)	
2 侧 p 值			0.249	

缩写:ANCOVA=协方差分析;CHG=相对于基线的变化;CI=置信区间;ERT=酶替

代疗法;ITT＝意向治疗;LOCF＝末次观察推进法;LS＝最小二乘法;max＝最大值;min＝最小值;N＝每个治疗组中的受试者数量;n＝具有可用数据的受试者数量;PROMIS＝患者报告的结果测量信息系统;Q1＝第一四分位数;Q3＝第三四分位数;SD＝标准偏差;SE＝标准误差

注意:总得分在20到100之间,得分越高表示身体功能影响越小,它是通过将所有20个项的得分(1到5)相加计算得出的。

[a]基线是第一次给药日期之前的最后一个非缺失值。

[b]所有估计值均来自ANCOVA模型,包括以下项:治疗、基线PROMIS-身体功能总得分、年龄、身高、体重(均为连续协变量)和性别。

PROMIS-疲劳

[0562] PROMIS-疲劳总得分从基线到第52周的平均(SD)变化显示,西帕葡糖苷酶α/麦格司他组平均改善了-2.7(5.17),阿葡糖苷酶α/安慰剂组平均改善了-5.4(6.61)。两个治疗组的PROMIS-疲劳得分结果均有所改善(p＝0.338)。

[0563] 表49总结了对于不包括受试者4005-2511的ERT初治群体,通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和ANCOVA模型(ITT-LOCF群体)的PROMIS-疲劳总得分的平均变化。图83显示了通过就诊汇总统计的线图。

表49:通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和ANCOVA模型(ITT-LOCF群体)的PROMIS-疲劳简表8a总得分变化总结-不包括受试者4005-2511的ERT初治群体-研究ATB200-03

	西帕葡糖苷酶 α/麦格司他 (N = 20)		阿葡糖苷酶 α/安慰剂 (N = 7)	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
基线[a]				
n	20		7	
均数 (SD)	23.10 (9.614)		24.13 (8.360)	
中位数 (Q1, Q3)	20.95 (15.00, 29.50)		24.00 (20.00, 31.00)	
Min, max	10.0, 40.0		9.0, 34.0	
第 52 周-LOCF				
n	20	20	7	7
均数 (SD)	20.60 (9.681)	-2.50 (5.630)	16.43 (7.231)	-7.70 (8.771)
中位数 (Q1, Q3)	16.50 (15.00, 27.50)	-2.00 (-4.50, 0.00)	15.00 (8.00, 25.00)	-6.90 (-16.00, -1.00)
Min, max	8.0, 40.0	-19.0, 9.0	8.0, 26.0	-21.0, 5.0

	西帕葡糖苷酶α/麦格司他（N = 20）		阿葡糖苷酶α/安慰剂（N = 7）	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
ANCOVA 的参数估计和比较[b]				
n	20		7	
LS 平均值（SE）	-2.99（1.487）		-6.28（2.757）	
LS 平均值的 95% CI	（-6.09，0.11）		（-12.03，-0.53）	
LS 平均值的差异（SE）（西帕葡糖苷酶α/麦格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰剂）			3.29 (3.346)	
差异的 95% CI			（-3.69，10.27）	
2 侧 p 值			0.338	

缩写:ANCOVA＝协方差分析;CHG＝相对于基线的变化;CI＝置信区间;ERT＝酶替代疗法;ITT＝意向治疗;LOCF＝末次观察推进法;LS＝最小二乘法;max＝最大值;min＝最小值;N＝每个治疗组中的受试者数量;n＝具有可用数据的受试者数量;PROMIS＝患者报告的结果测量信息系统;Q1＝第一四分位数;Q3＝第三四分位数;SD＝标准偏差;SE＝标准误差

注意:总得分在8到40之间,得分越低表示疲劳影响越小,它是通过将所有8个项的得分(1到5)相加计算得出的。

[a]基线是研究药物首个剂量施用前的最后一个非缺失值。

[b]所有估计值均来自ANCOVA模型,包括以下项:治疗、基线PROMIS-疲劳总得分、年龄、身高、体重(均为连续协变量)和性别。

GSSC

[0564] GSGC总得分从基线到第52周的平均(SD)变化显示,西帕葡糖苷酶α/麦格司他组改善了-0.6(2.64),阿葡糖苷酶α/安慰剂组改善了1.3(1.80)。对于ANCOVA模型,LS平均治疗差异(95% CI)为-1.32(-4.03,1.39),p值为0.320。

[0565] 表50总结了对于不包括受试者4005-2511的ERT初治群体,通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和ANCOVA模型(ITT-OBS群体)的GSGC总得分的平均变化。图84显示了通过就诊汇总统计的线图。

表50:通过从基线到第52周的就诊(ITT群体)和ANCOVA模型(ITT-LOCF群体)的GSGC总得分变化总结-不包括受试者4005-2511的ERT初治受试者-研究ATB200-03

	西帕葡糖苷酶α/麦格司他（N = 19）		阿葡糖苷酶α/安慰剂（N = 7）	
	绝对值	CHG	绝对值	CHG
基线[a]				
n	19		7	
均数（SD）	11.32 (6.650)		10.86 (4.413)	
中位数（Q1，Q3）	12.00 (5.00, 18.00)		9.00 (8.00, 16.00)	
Min，max	4.0, 24.0		6.0, 18.0	
第52周-LOCF				
n	18	18	7	7
均数（SD）	10.06 (5.407)	-0.56（2.640）	12.14 (4.598)	1.29 (1.799)
中位数（Q1，Q3）	8.50 (5.00, 13.00)	-0.50（-1.00，1.00）	10.00 (9.00, 16.00)	1.00 (0.00, 2.00)
Min，max	4.0, 20.0	-8.0, 4.0	6.0, 19.0	0.0, 5.0
ANCOVA的参数估计和比较[b]				
n	18		7	
LS平均值（SE）	-0.41（0.595）		0.91 (1.042)	
LS平均值的95% CI	（-1.66，0.84）		（-1.28，3.10）	
LS平均值的差异（SE）（西帕葡糖苷酶α/麦格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰剂）			-1.32（1.289）	
差异的95% CI			（-4.03，1.39）	
2侧p值			0.320	

缩写:ANCOVA＝协方差分析;CHG＝相对于基线的变化;CI＝置信区间;ERT＝酶替代疗法;GSGC＝步态、楼梯、高尔斯动作和椅子测试;ITT＝意向治疗;LOCF＝末次观察推进法;LS＝最小二乘法;max＝最大值;min＝最小值;N＝每个治疗组中的受试者数量;n＝具有可用数据的受试者数量;Q1＝第一四分位数;Q3＝第三四分位数;SD＝标准偏差;SE＝标准误差

注意:步态得分基于10米步行测试;楼梯得分基于受试者爬楼梯;高尔斯动作得分基于受试者躺在地板上,然后从地板上站起来达到站立位置;椅子得分基于受试者从椅子上的坐姿到站姿。GSGC总得分是4项测试的加和,范围从最低4分(正常表现)到最高27分(最差得分)。

[a]基线是研究药物首个剂量施用前的最后一个非缺失值。

[b]所有估计值均来自ANCOVA模型,包括以下项:治疗、基线GSGC总得分、年龄、身高、体重(均为连续协变量)和性别。

ATB200-03结果总结

[0566] 表51和图85总结了ITT群体(不包括离群值受试者)的主要终点、关键次要终点和其他几个次要终点(运动和肺功能、肌肉力量和PRO)以及生物标志物终点(Hex4和CK)的结

果,其显示了每个治疗组内每个终点在第52周时与基线相比的变化的标准化效应大小。图85中,与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比,绝大多数终点的结果在第52周时有所改善(用0以上的柱表示)并且定向有利于西帕葡糖苷酶α/麦格司他(用较高的左侧/深色柱相对于右侧/浅色柱表示)。

[0567] 观察到西帕葡糖苷酶α/麦格司他在多个参数方面相对于基线有统计学显著改善(对于增加即改善的参数,95% CI的下限>0;对于减少即改善的参数,95%CI的下限<0):6MWD、预测的6MWD%、MMT下肢、MMT上肢、总体MMT、PROMIS-身体功能、PROMIS-疲劳、CK和Hex4,仅在坐姿SVC时观察到统计学上显著的衰退。相比之下,阿葡糖苷酶α/安慰剂组的任何参数均未观察到与基线相比有统计学显著性的改善,而GSGC、坐姿FVC、仰卧FVC、坐姿SVC和CK均观察到统计学上显著的衰退。

表51:ITT群体的目标终点总结,不包括离群值受试者4005-2511-研究ATB200-03

类别	终点	终点等级	总体受试者				
			西帕葡糖苷酶 α/麦格司他		阿葡糖苷酶 α/安慰剂		2 侧 P 值
			BL 平均值	CFBL 第 52 周 LOCF 平均值 (95% CI)	BL 平均值	CFBL 第 52 周 LOCF 平均值 (95% CI)	
运动功能	6MWD	1	357.93	20.79 (11.56, 30.01)	350.95	7.24 (-6.19, 20.67)	0.071

	6MWD 第 26 周	关键 2	357.93	17.44 (9.80, 25.08)	350.95	9.19 (-0.20, 18.59)	0.195
	GSGC	关键 2	14.51	-0.53（-1.13, 0.06）	14.50	0.77 (0.09, 1.44)	**0.009**
	预测的 6MWD %	2	57.82	4.07 (2.56, 5.59)	56.03	1.58 (-0.42, 3.58)	0.077
	10m 步行（秒）	2	9.68	-0.53（-1.81, 0.76）	9.58	1.90 (-0.17, 3.96)	**0.025**
	爬 4 级楼梯（秒）	2	14.09	-8.46（-24.26, 7.34）	8.22	0.32 (-1.66, 2.29)	**0.050**
	高尔斯（秒）	2	10.84	-0.26（-1.74, 1.22）	19.82	-2.19（-5.04, 0.66）	0.305
	椅子测试（秒）	2	13.58	-10.17（-29.40, 9.06）	4.52	-0.50（-1.92, 0.92）	0.290
	TUG（秒）	2	12.88	-0.30（-2.24, 1.65）	12.77	-0.13（-1.11, 0.85）	0.748
肺功能	FVC（坐姿，%预测）	第一关键 2	70.74	-0.93（-2.29, 0.42）	69.68	-3.95（-5.58, -2.32）	**0.023**
	FVC（仰卧，%预测）	2	54.78	-0.24（-1.46, 0.99）	55.09	-3.00（-4.67, 1.33）	**0.009**
	SVC（坐姿，%预测）	2	69.94	-2.32（-4.25, -0.38）	68.59	-5.86（-8.83, -2.90）	0.125
	MIP（%预测）	2	61.79	2.06 (-2.11, 6.23)	59.90	-2.70（-8.32, 2.92）	0.278
	MEP（%预测）	2	70.72	0.62 (-4.14, 5.38)	65.08	-1.59（-5.86, 2.67）	0.617
肌肉力量	下肢 MMT	关键 2	27.96	1.56 (0.72, 2.40)	27.65	0.88 (-0.02, 1.78)	0.191
	上肢 MMT	2	34.30	1.51 (0.76, 2.25)	34.70	0.68 (-0.51, 186)	0.117

	总体MMT	2	62.25	3.07 (1.66, 4.48)	62.35	1.41 (-0.12,2.94)	0.059
	QMT 总计	2	165.83	6.86 (-5.31, 19.04)	158.8	8.20 (-2.38, 18.77)	0.751
QOL	PROMIS-身体	关键2	66.86	1.94 (0.31, 3.57)	67.97	0.19 (-3.42, 3.80)	0.276
	PROMS-疲劳	关键2	22.26	-2.02 (-3.26, -0.77)	21.08	-1.67 (-3.88, 0.54)	0.970
生物标志物	CK	2	447.0	-130.5 (-180.4, -80.7)	527.8	60.2 (7.0, 113.3)	**< 0.001**
	HEX4	2	4.61	-1.88 (-2.40, -1.36)	6.92	1.22 (-0.26, 2.70)	**< 0.001**

缩写:6MWD=6分钟步行距离;ANCOVA=协方差分析;BL=基线;CFBL=相对于基线的变化;CI=置信区间;CK=肌酸激酶;ERT=酶替代疗法;FVC=用力肺活量;GSGC=步态、楼梯、高尔斯动作和从椅子上起身测试;Hex4=己糖四糖;ITT=意向治疗;LOCF=末次观察推进法;MEP=最大呼气压力;MIP=最大吸气压力;MMT=徒手肌力测试;PROMIS=患者报告的结果测量信息系统;QMT=定量肌肉测试;QOL=生活质量;sec=秒;SVC=慢肺活量;TUG=计时起立行走测试

注意:终点等级1=主要;终点等级2=次要

注意:阴影CFBL平均值=CFBL改善;非阴影CLFBL平均值=CFBL恶化。

注意:阴影终点表示Cipa/mig组有利。

注意:P值是名义上的,基于ANCOVA,但6MWD除外,它基于基于非参数随机化的ANCOVA。

注意:基于LOCF手段。

注意:粗体p值表示在该指定群体(例如,总体或经历过ERT)中指定终点(例如,6MWD)的优势测试在名义上是显著的。

使用具有实际评估时间点的MMRM分析主要和次要终点-研究ATB200-03

[0568] 虽然预设分析(主要终点6MWD的非参数ANCOVA和关键次要终点的ANCOVA)是阿米克斯公司(Amicus)的核心立场,并包含在公司核心数据表(CCDS)中,但在评估欧盟上市授权申请(MAA)期间,应人用医药产品委员会(CHMP)的要求进行了额外的事后分析。这些分析使用具有实际评估时间点的MMRM方法,这些分析的结果显示在EU产品特性摘要(SmPC)中。

总体ITT群体中的MMRM分析

[0569] 使用MMRM模型对6MWD进行分析,该模型具有ITT-OBS上的实际评估时间点,并排除离群值受试者4005-2511。具体而言,因变量是评估中相对于基线的变化。自变量包括治疗的固定分类效应、ERT状态和性别,以及评估时间(天)、基线6MWD、基线年龄、基线体重和基线身高的固定连续协变量、以及治疗时间相互作用。模型中还包括对受试者的随机截取。然后使用第364天的LS平均值以及95%CI估计每个治疗组在第52周时相对于基线的变化和治

疗组之间的差异。该分析的结果总结在表52中。西帕葡糖苷酶α/麦格司他的六分钟步行距离与基线相比显示出显著改善,并且与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比改善更大,但未显示出统计学优势。第52周时,西帕葡糖苷酶α/麦格司他组的LS平均改善(95% CI)相对于基线为20.0m(13.1,26.9),相比之下,阿葡糖苷酶α/安慰剂组为8.3m(-2.2,18.8)。LS平均值治疗差异(95% CI)为11.7m(-1.0,24.4)。

表52:基于MMRM模型的6MWD结果总结,评估的实际时间点(ITT-OBS群体,不包括受试者4005-2511)—研究ATB200-03

终点	西帕葡糖苷酶 α/麦格司他 LS 平均值(95% CI)	阿葡糖苷酶 α/安慰剂 LS 平均值 (95% CI)	LS 平均治疗差异[a]	差异的 95% CI[b]
CHG 至第 52 周, 6MWD	20.0 (13.1, 26.9)	8.3 (-2.2, 18.8)	11.7	(-1.0, 24.4)

缩写:6MWD=6分钟步行距离;CHG=相对于基线的变化;CI=置信区间;ERT=酶替代疗法;ITT-OBS=意向治疗群体,包括第52周时所有可用的观察数据,没有任何缺失数据插补;LS=最小二乘法;MMRM=用于重复测量的混合效应模型

[a]差异=西帕葡糖苷酶α/麦格司他-阿葡糖苷酶α/安慰剂

[b] MMRM模型用于基于ITT-OBS群体的分析。该模型包括针对以下的项:治疗、评估时间、根据评估时间相互作用进行的治疗、基线6MWD值、年龄、身高、体重(均为连续协变量)、ERT状态(ERT初治与经历过ERT)和性别。

[0570] 还使用具有实际时间点评估的MMRM模型对ITT-OBS群体进行了预测坐姿FVC%、MMT下肢得分、PROMIS-身体功能、PROMIS-疲劳和GSGC总得分的关键次要终点的分析。表53总结了组合的总体ITT-OBS群体(经历过酶替代疗法[ERT]和ERT初治)的5个关键次要终点的结果,不包括离群值受试者(4005-2511)。对于预测的FVC%,与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比,西帕葡糖苷酶α/麦格司他在总体ITT-OBS群体中表现出名义上的显著改善(差异的95% CI排除0)。相比于阿葡糖苷酶α/安慰剂,列出的其他关键次要终点(包括运动功能(MMT和GSGC)和PRO(PROMIS-身体功能和PROMIS-疲劳)的评估)的结果在数值上有利于西帕葡糖苷酶α/麦格司他,GSGC也显示出名义上的优势。作为相对于基线的变化,观察到西帕葡糖苷酶α/麦格司他对MMT、PROMIS-身体功能、PROMIS-疲劳和GSGC的平均改善。综上所述,庞贝病多个临床维度结果的一致性提供了支持性证据,证明西帕葡糖苷酶α/麦格司他在总体群体中优于阿葡糖苷酶α/安慰剂的功效益处。

表53:基于MMRM模型的关键次要终点结果总结,评估的实际时间点(ITT-OBS群体,不包括受试者4005-2511)—研究ATB200-03

水平 终点	西帕葡糖苷酶α/麦格司他 LS平均值（95% CI）	阿葡糖苷酶α/安慰剂 LS平均值（95% CI）	LS平均治疗差异[a]	差异的95% CI[b]
CHG至第52周，预测坐姿FVC%	-1.4（-2.5，-0.3）	-3.7（-5.4，-2.0）	2.3	（0.2，4.4）
CHG至第52周，MMT下肢得分	1.7 (1.1, 2.4)	0.7 (-0.4, 1.7)	1.1	（-0.1，2.3）
CHG至第52周，PROMIS-身体功能总得分[c]	2.2 (0.5, 3.9)	-0.3（-2.9，2.3）	2.5	（-0.6，5.7）
CHG至第52周，PROMIS-疲劳总得分[c]	-2.0（-3.2，-0.9）	-1.7（-3.4，0.0）	-0.3	（-2.4，1.8）
CHG至第52周，GSGC总得分	-0.7（-1.2，-0.2）	0.8 (0.0, 1.5)	-1.5	（-2.4，-0.6）

缩写:CHG＝相对于基线的变化;CI＝置信区间;ERT＝酶替代疗法;FVC＝用力肺活量;GSGC＝步态、楼梯、高尔斯动作和椅子测试;ITT-OBS＝意向治疗群体,包括第52周时所有可用的观察数据,没有任何缺失数据插补;LS＝最小二乘法;MMRM＝用于重复测量的混合效应模型;MMT＝徒手肌力测试;PROMIS＝患者报告的结果测量信息系统

[a]差异＝西帕葡糖苷酶α/麦格司他-阿葡糖苷酶α/安慰剂。对于PROMIS-疲劳和GSGC,减少表示改善。

[b] MMRM模型用于基于ITT-OBS群体的关键次要终点的分析。该模型包括针对以下的项:治疗、评估时间、根据评估时间相互作用进行的治疗、基线应答变量、年龄、身高、体重(均为连续协变量)、ERT状态(ERT初治与经历过ERT)和性别。

[c]总得分是通过将所有项目的得分(1到5)相加计算得出的。

按ERT状态的MMRM分析

[0571] 主要和关键次要终点的分析也使用与上述相同的模型按酶替代疗法(ERT)状态进行。表54总结了ITT-OBS经历过ERT的群体的主要终点和5个关键次要终点的结果。对于6MWD从基线到第52周的变化这一主要终点,与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比,西帕葡糖苷酶α/麦格司他显示出相对于基线的显著改善以及名义上具有统计学显著性(LS平均治疗差异的95% CI排除0)和具有临床意义的改善。同样,对于第一个关键次要终点(预测FVC%),与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比,西帕葡糖苷酶α/麦格司他显示出名义上具有统计学显著性(LS平均治疗差异的95% CI排除0)和具有临床意义的改善。相比于阿葡糖苷酶α/安慰剂,列出的其他关键次要终点(包括肌肉力量和运动功能(MMT下肢和GSGC)以及PRO(PROMIS-身体功能和PROMIS-疲劳)的评估)的结果在数值上有利于西帕葡糖苷酶α/麦格司他,GSGC也显示出名义上的优势。作为相对于基线的变化,观察到西帕葡糖苷酶α/麦格司他对MMT、PROMIS-身体功能、PROMIS-疲劳和GSGC的平均改善。综上所述,庞贝病临床表现的多个维度结果的一致性提供了支持性证据,证明西帕葡糖苷酶α/麦格司他在经历过ERT的群体中优于阿葡糖苷酶α/安慰剂的功效益处。

表54:基于MMRM模型的主要和关键次要终点的结果总结,评估的实际时间点(ITT-OBS群体-经历过ERT的受试者)-研究ATB200-03

水平 终点	西帕葡糖苷酶α/麦格司他 LS平均值(95% CI)	阿葡糖苷酶α/安慰剂 LS平均值(95% CI)	LS平均治疗差异[a]	差异的95% CI[b]
主要终点				
CHG至第52周,6MWD	15.8 (8.3, 23.4)	0.9 (-10.2, 12.1)	14.9	(1.2, 28.6)
关键次要终点				
CHG到第52周,预测坐姿FVC%	-0.2 (-1.5, 1.1)	-3.8 (-5.7, -1.9)	3.6	(1.3, 5.9)
CHG至第52周,MMT下肢得分	1.8 (1.0, 2.6)	0.9 (-0.3, 2.1)	0.9	(-0.6, 2.3)
CHG至第52周,PROMIS-身体功能总得分[c]	2.0 (-0.0, 4.0)	-1.6 (-4.5, 1.4)	3.5	(-0.1, 7.1)
CHG至第52周,PROMIS-疲劳总得分[c]	-1.9 (-3.2, -0.6)	-0.7 (-2.6, 1.2)	-1.2	(-3.5, 1.1)
CHG至第52周,GSGC总得分	-0.7 (-1.3, -0.1)	0.5 (-0.4, 1.4)	-1.2	(-2.2, -0.1)

缩写:6MWD=6分钟步行距离;CHG=相对于基线的变化;CI=置信区间;ERT=酶替代疗法;FVC=用力肺活量;GSGC=步态、楼梯、高尔斯动作和椅子测试;ITT-OBS=意向治疗群体,包括第52周时所有可用的观察数据,没有任何缺失数据插补;LS=最小二乘法;MMRM=用于重复测量的混合效应模型;MMT=徒手肌力测试;PROMIS=患者报告的结果测量信息系统

[a]差异=西帕葡糖苷酶α/麦格司他-阿葡糖苷酶α/安慰剂。对于PROMIS-疲劳和GSGC,减少表示改善。

[b] MMRM模型用于分析基于ITT-OBS群体的主要和关键次要终点。该模型包括针对以下的项:治疗、评估时间、根据评估时间相互作用进行的治疗、基线应答变量、年龄、身高、体重(均为连续协变量)和性别。

[c]总得分是通过将所有项目的得分(1到5)相加计算得出的。

[0572] 相反,对于ERT初治群体,预测FVC%的第一个关键次要终点在两个治疗组中均相对于基线下降,在数值上有利于阿葡糖苷酶α/安慰剂组。评估肌肉力量和运动功能(MMT下肢和GSGC)的关键次要终点的结果表明,西帕葡糖苷酶α/麦格司他组相对于基线有所改善,并且相比于阿葡糖苷酶α/安慰剂,在数量上有利于西帕葡糖苷酶α/麦格司他。对于PRO关键次要终点(PROMIS-身体功能和PROMIS-疲劳),两个治疗组均表现出改善,在数值上有利于阿葡糖苷酶α/安慰剂组。总体而言,对于ERT初治群体,一些终点在数值上有利于西帕葡糖苷酶α/麦格司他,一些终点在数值上有利于阿葡糖苷酶α/安慰剂,但没有一个终点达到名

义上的统计显著性。这些结果表明,在ERT初治群体中,西帕葡糖苷酶α/麦格司他的功效并不差于阿葡糖苷酶α/安慰剂。

[0573] 表55总结了ITT-OBS ERT初治群体(不包括离群值受试者)的主要终点和5个关键次要终点的结果。对于6MWD从基线到第52周变化的主要终点,在两个治疗组中均观察到相对于基线有临床意义的改善,在数值上有利于阿葡糖苷酶α/安慰剂组。在ERT初治群体中,MMRM分析的可解释性可能会受到因样本量小而导致的协变量不平衡造成的估计值不稳定的影响,因此不涉及协变量调整的分析(诸如相对于基线的未经调整的平均变化)应被视为评估该组6MWD的主要方法。

表55:基于MMRM模型的主要和关键次要终点的结果总结,评估的实际时间点(ITT-OBS群体,不包括受试者4005-2511-ERT初治受试者)-研究ATB200-03

水平 终点	西帕葡糖苷酶 α/麦格司他 LS 平均值（95% CI）	阿葡糖苷酶 α/安慰剂 LS 平均值（95% CI）	LS 平均治疗差异[a]	差异的 95% CI[b]
主要终点				
CHG 至第 52 周，6MWD	28.5 (12.4, 44.7)	52.7 (23.2, 82.3)	-24.2	(-60.0，11.7)
关键次要终点				
CHG 到第 52 周，预测坐姿 FVC %	-5.2（-7.5，-2.9）	-2.4（-6.7，1.8）	-2.8	(-7.8，2.3)
CHG 至第 52 周，MMT 下肢得分	1.4 (0.4, 2.5)	-0.0（-1.9，1.9）	1.5	(-0.8，3.7)
CHG 至第 52 周，PROMIS-身体功能总得分[c]	2.6 (-1.0, 6.3)	5.8 (-0.9, 12.4)	-3.1	(-11.2，4.9)
CHG 至第 52 周，PROMIS-疲劳总得分[c]	-3.0（-5.7，-0.2）	-4.9（-9.9，0.0）	2.0	(-4.1，8.0)

水平 终点	西帕葡糖苷酶 α/麦格司他 LS 平均值（95% CI）	阿葡糖苷酶 α/安慰剂 LS 平均值（95% CI）	LS 平均治疗差异[a]	差异的 95% CI[b]
CHG 至第 52 周，GSGC 总得分	-0.6（-1.6，0.4）	1.3 (-0.4, 3.1)	-1.9	(-4.1，0.2)

缩写:6MWD=6分钟步行距离;CHG=相对于基线的变化;CI=置信区间;ERT=酶替代疗法;FVC=用力肺活量;GSGC=步态、楼梯、高尔斯动作和椅子测试;ITT-OBS=意向治疗群体,包括第52周时所有可用的观察数据,没有任何缺失数据插补;LS=最小二乘法;MMRM=用于重复测量的混合效应模型;MMT=徒手肌力测试;PROMIS=患者报告的结果测量信息系统

[a]差异=西帕葡糖苷酶α/麦格司他-阿葡糖苷酶α/安慰剂。对于PROMIS-疲劳和

GSGC,减少表示改善。

[b] MMRM模型用于基于ITT-OBS群体的主要和关键次要终点的分析。该模型包括针对以下的项:治疗、评估时间、根据评估时间相互作用进行的治疗、基线应答变量、年龄、身高、体重(均为连续协变量)和性别。

[c]总得分是通过将所有项目的得分(1到5)相加计算得出的。

患者报告的结果和医生对变化的总体印象—研究ATB200-03

[0574] 其他PRO包括PROMIS-呼吸困难、PROMIS-上肢、R-PACT、EQ-5D-5L、SGIC。PGIC也包括在内。PROMIS、R-PACT和EQ-5D-5L的结果在两个治疗组中都显示出相似的改善。SGIC和PGIC显示出持续更大的改善,有利于西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗。

[0575] 评估了八个不同的SGIC终点:总体身体健康、呼吸的力度、肌肉力量、肌肉功能、四处走动的能力、日常生活活动、能量水平和肌肉疼痛。在所有这些领域中,与接受阿葡糖苷酶α治疗的患者相比,接受西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗的总群体中有更大比例的患者报告有改善,并且更低比例的患者报告有恶化。PGIC也观察到了类似的结果。下面显示了SGIC总体身体健康领域(其代表了这些量度所报告的益处)的结果(图86)。

6MWD和FVC的改善的临床相关性—研究ATB200-03

[0576] 庞贝病中6MWD和FVC的临床相关变化的阈值尚未确定,但是存在大量来自其他神经肌肉和慢性呼吸系统疾病,尤其是间质性肺纤维化(IPF)的数据。在那里,6MWD增加大于6%(范围3%至11%)和FVC变化大于3%(范围2%至6%)被认为具有临床相关性,使用基于锚定和基于分布的方法。因此,这些阈值被应用于研究ATB200-03数据的分析。

[0577] 对于西帕葡糖苷酶α/麦格司他在6MWD和FVC方面观察到的结果代表了对患者具有临床意义的改善。西帕葡糖苷酶α/麦格司他组的6MWD平均改善21米,较基线(平均358米)增加约6%,这表明具有临床意义的组水平改善,而阿葡糖苷酶α组的平均改善为7米,并未达到这个阈值。对于FVC,相对于阿葡糖苷酶α/安慰剂,用西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗的受试者的3%改善表明具有临床意义的组水平改善,这与LOTS随机对照关键研究中阿葡糖苷酶α本身相对于安慰剂显示出的具有临床意义的改善幅度相似。

[0578] 根据上述医学文献分别使用±6%、±3%和±7%的具有临床有意义的应答阈值,通过对6MWD、FVC和MMT下肢得分的应答进行预设的综合患者水平应答者分析,进一步支持了这些组水平分析的临床相关性。这项预设分析显示,在用西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗的总体群体中,较大比例的受试者显示出具有临床意义的改善,并且较小比例的受试者在这3个终点上显示出具有临床意义的恶化,这使得总体上看,西帕葡糖苷酶α/麦格司他优于阿葡糖苷酶α/安慰剂(p=0.012)。

[0579] 对6MWD和FVC均有临床意义改善的受试者进行的预先指定比较显示,对于西帕葡糖苷酶α/麦格司他在两个领域均有改善的受试者比例显著更大(p=0.041)。使用单独和组合的6MWD(±6%)和FVC(±3%)的这些阈值进行另外的事后患者水平分析。这些分析表明,分别对于6MWD(p=0.018)(图87A)和FVC(p=0.011)(图87B),以及对于6MWD和FVC两者(p=0.002)(图87C),与用阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗的患者相比,用西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗的受试者中有更大比例的受试者显示出具有临床意义的改善,并且更小比例的受试者显示出具有临床意义的恶化。

[0580] 另外的敏感性分析表明,在一系列反应阈值(例如,6MWD±30m、±20m、±10m;FVC

±9%、±6%、±3%)中,与用阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗的患者相比,用西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗的受试者中有更大比例的受试者表现出具有临床意义的改善,并且更小比例的受试者表现出具有临床意义的恶化。

结论—研究ATB200-03

[0581] 对主要终点6MWD在总体群体中针对优势进行了测试,尽管西帕葡糖苷酶α/麦格司他组在数值上优于阿葡糖苷酶α/安慰剂组,但未达到统计学显著性(p=0.071)。

[0582] 在第一个关键次要终点FVC方面,西帕葡糖苷酶α/麦格司他在总体群体中显示出与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比具有名义统计学显著性(p=0.023)和有临床意义的优势差异。与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比,FVC的3.0%绝对改善几乎与阿葡糖苷酶α相比于安慰剂的3期研究中观察到的改善一样大,并且根据医学文献,其幅度被认为对患者具有临床意义。

[0583] 基于临床相关变化阈值的患者水平应答者分析表明,在6MWD和FVC中观察到的改善具有临床意义。

[0584] 在经历过ERT的亚组中,所有主要和关键的次要终点也显示出改善并且定向有利于的西帕葡糖苷酶α/麦格司他,支持该群体中6MWD和预测FVC%的显著结果。对6MWD和FVC的分析产生的p值分别为0.047和0.006。

[0585] 在较小的ERT初治群体中,两个治疗组的患者在绝大多数主要和关键次要终点方面均表现出改善,不同的终点在数值上有利于不同的治疗组。

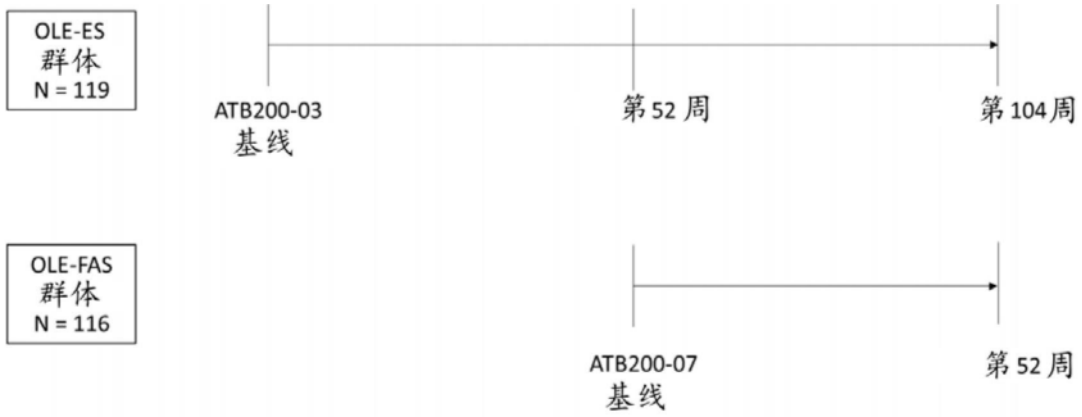
[0586] 使用主要终点6MWD和第一个关键次要终点FVC的事后全局测试在包括所有受试者在内的总体ITT群体中显示出名义上的统计学意义(2侧p=0.022),并支持在所研究群体中分别对这些终点中的每一个终点观察到的结果的显著性。

[0587] 在所有3个群体中,包括总体群体、经历过ERT的群体和ERT初治群体,与阿葡糖苷酶α相比,西帕葡糖苷酶α/麦格司他对肌肉损伤(CK)和疾病底物(Hex4)生物标志物的降低也明显更大,其中西帕葡糖苷酶α/麦格司他组中两种生物标志物的名义p值为p<0.001。

[0588] 总之,共同施用20mg/kg IV输注的西帕葡糖苷酶α和260mg麦格司他导致庞贝病所有重要领域(肌肉力量、肺功能和运动功能以及PRO)相对于基线均有临床显著的和相关的改善。此外,在总体群体中,与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比,西帕葡糖苷酶α/麦格司他在整个重要的庞贝病领域中获得的结果上是定向有利的。

实例20:研究ATB200-07

[0589] 本总结中呈现的分析群体为1)OLE-ES群体(符合资格要求(基于纳入和排除标准)并进入研究ATB200-07的所有受试者,和2)OLE-FAS群体(所有进入OLE研究ATB200-07的受试者,这些受试者针对6个主要的功效终点[6MWD、坐姿预测FVC%、MMT-下肢、PROMIS-身体功能、PROMIS-疲劳和GSGC]中的至少1个终点进行了有效的ATB200-07基线和至少1次基线后评估)。针对1)OLE-ES群体(不包括离群值)和2)OLE-FAS群体(来自研究ATB200-07基线)呈现6个主要功效终点的数据,如下所描绘。



[0590] 这是一项正在进行的开放标签扩展研究,旨在评估西帕葡糖苷酶α/麦格司他在完成研究ATB200-03的成年LOPD受试者中的长期安全性和功效。

[0591] 截至2022年1月11日的中期数据截止日,在参加研究ATB200-03的123名受试者(85名用西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗;38名用阿葡糖苷酶α治疗)中,共有117名受试者完成了研究,并且然后参加了研究ATB200-07。另外两名受试者(1107-1681和2010-1352)没有完成研究ATB200-03但参加了研究ATB200-07,使参加研究ATB200-07(OLE-ES群体)的受试者总数达到119(91名经历过ERT和28名ERT初治)。

[0592] 如上所述,2名未完成研究ATB200-03的受试者参加了研究ATB200-07。由于SARS-Cov-2病毒(COVID-19)相关肺炎引起的2019冠状病毒病的不良事件(AE),受试者1107-1681在ATB200-03研究中停用了西帕葡糖苷酶α/麦格司他,随后参加了研究ATB200-07。受试者2010-1352由于对COVID-19的担忧而不愿前往研究站点,因此中止了研究ATB200-03,随后参加了研究ATB200-07。

[0593] 在参加研究ATB200-07的119名受试者(OLE-ES群体)中,先前在研究ATB200-03中用西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗的85名受试者(西帕葡糖苷酶α/麦格司他组)中的82名(96.5%)受试者进入研究ATB200-07并继续用西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗(被指定为西帕葡糖苷酶α/麦格司他-西帕葡糖苷酶α/麦格司他组),并且先前在研究ATB200-03中用阿葡糖苷酶α治疗的38名受试者(阿葡糖苷酶α/安慰剂组)中的37名(97.4%)受试者进入研究ATB200-07并转换为西帕葡糖苷酶α/麦格司他(被指定为阿葡糖苷酶α/安慰剂-西帕葡糖苷酶α/麦格司他组或治疗转换群体)。由于COVID-19大流行,西帕葡糖苷酶α/麦格司他组的一名受试者(受试者2024-1101)撤回了同意,并且从未在研究ATB200-07中给药。因此,OLE安全性群体包括118名受试者。最后,2名受试者未提供有效基线和至少1项针对6个主要疗效终点中至少1个的基线后评估;因此,OLE-FAS群体包括116名受试者。

[0594] 截至数据截止日期(2022年1月11日),ATB200-07研究中OLE-FAS群体的流失率较低,共有11名(9.2%)给药受试者提前退出研究。在西帕葡糖苷酶α/麦格司他-西帕葡糖苷酶α/麦格司他组早期停药的7名受试者中,5名受试者撤回同意,1名受试者因AE停药,1名受试者失访。在阿葡糖苷酶α/安慰剂-西帕葡糖苷酶α/麦格司他组的4名受试者中,1名受试者撤回同意,2名受试者因AE停药,1名受试者因病情恶化而停药。

[0595] 在研究ATB200-07中继续用西帕葡糖苷酶α/麦格司他的受试者(西帕葡糖苷酶α/麦格司他-西帕葡糖苷酶α/麦格司他组)与从研究ATB200-03中的阿葡糖苷酶α/安慰剂转换为研究ATB200-07中的西帕葡糖苷酶α/麦格司他的受试者(阿葡糖苷酶α/安慰剂-西帕葡糖

苷酶α/麦格司他组)之间的基线人口统计特征总体相似。每个受试者在研究ATB200-07中的ERT状态基于研究ATB200-03中基线时记录的ERT状态。在研究ATB200-07 OLE-FAS群体的116名受试者中,23.3%是ERT初治(n=27),76.7%的受试者经历过ERT(n=89)。研究ATB200-03的每个治疗组中经历过ERT的受试或ERT初治受试者的百分比相似。两个治疗组中的大多数(67.4%)受试者均接受过≥5年的先前ERT治疗(研究ATB200-03西帕葡糖苷酶α/麦格司他组中69.2%的受试者,和研究ATB200-03阿葡糖苷酶α/安慰剂组中63.3%的受试者)。

[0596] 功效数据作为研究ATB200-03(OLE-ES群体)的相对于基线的变化呈现在本总结中。研究ATB200-07(OLE-FAS群体)的基线数据以及经历过ERT的群体和ERT初治群体的数据与对于总体OLE-ES群体观察到的数据一致。

6MWD和预测的6MWD%

[0597] 如图88所示,西帕葡糖苷酶α/麦格司他组中的受试者(这些受试者在研究ATB200-03中用西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗52周,并在研究ATB200-07中继续用西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗额外52周)在研究ATB200-03期间显示出改善,所述改善然后维持到第104周。阿葡糖苷酶α/安慰剂组中的受试者(这些受试者在研究ATB200-03中用阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗52周,并在研究ATB200-07中转换为西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗52周)在用阿葡糖苷酶α至第52周期间显示出与西帕葡糖苷酶α/麦格司他组相比较小的改善,然后在转换为西帕葡糖苷酶α/麦格司他至第104周后,总体上稳定在低于西帕葡糖苷酶α/麦格司他组的水平。

预测坐姿FVC%

[0598] 如图89所示,西帕葡糖苷酶α/麦格司他组中的受试者(这些受试者在研究ATB200-03中用西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗52周,并在研究ATB200-07中继续用西帕葡糖苷酶α/麦格司他额外52周)在研究ATB200-03整个过程中相对于基线显示出轻微的衰退,然后稳定至第104周。阿葡糖苷酶α/安慰剂组中的受试者(这些受试者在研究ATB200-03中用阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗52周,并在研究ATB200-07中转换为西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗52周)在用阿葡糖苷酶α至第52周期间显示出与西帕葡糖苷酶α/麦格司他组相比较大的衰退,然后在转换为西帕葡糖苷酶α/麦格司他至第104周后,总体上稳定在低于西帕葡糖苷酶α/麦格司他组的水平,其中在研究ATB200-07期间各次就诊之间存在一些差异。

其他主要的次要终点

[0599] 其他主要的终点(MMT下肢、PROMIS-身体功能、PROMIS-疲劳和GSGC)的结果与对于6MWD观察到的结果基本一致。对于在研究ATB200-03和ATB200-07整个过程中接受西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗的受试者,MMT下肢、PROMIS-身体功能、PROMIS-疲劳和GSGC在研究ATB200-03整个过程中改善或保持稳定,然后在研究ATB200-07整个过程中稳定。对于在研究ATB200-03期间用阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗并在研究ATB200-07中转换为西帕葡糖苷酶α/麦格司他的受试者,MMT下肢和PROMIS-疲劳显示相对于研究ATB200-03基线略有改善,然后至第104周,要么进一步改善,要么稳定。从研究ATB200-03基线到研究ATB200-07,PROMIS-身体功能和GSGC总体保持稳定。

药效学

[0600] 从研究ATB200-03基线到第104周的PD标志物CK和Hex4的平均变化的分析支持针

对6个主要功效终点呈现的结果(图90A和90B)。对于西帕葡糖苷酶α/麦格司他组中的受试者(这些受试者在研究ATB200-03中用西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗52周,并在研究ATB200-07中继续用西帕葡糖苷酶α/麦格司他额外52周),CK(女性正常范围:34至145U/L;男性正常范围:46至171U/L)和Hex4(正常范围:3.0mmol/mol肌酐)至第52周都大幅衰退,然后在第52周至第104周稳定。对于阿葡糖苷酶α/安慰剂组中的受试者(这些受试者在研究ATB200-03中用阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗52周,并在研究ATB200-07中转换为西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗52周),CK至第52周总体上稳定在研究ATB200-03基线值或略微高于该基线值,然后在受试者从第52周至第104周转换为西帕葡糖苷酶α/麦格司他后,大幅衰退。受试者接受阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗时Hex4从ATB200-03基线增加直到第52周,然后在受试者转换为西帕葡糖苷酶α/麦格司他后减少直到第104周。

结论

[0601] 研究ATB200-07以及研究ATB200-02的功效数据提供了支持西帕葡糖苷酶α/麦格司他作用维持和持久的数据。表56是第52周(研究ATB200-07基线)和第104周(研究ATB200-07的第52周)相对于研究ATB200-03基线的变化的总结。

[0602] 在研究ATB200-03整个过程中,两个治疗组的6个主要终点(即6MWD、MMT下肢、PROMIS-身体功能、PROMIS-疲劳和GSGC得分)中的大多数保持稳定或改善。对于在研究ATB200-07整个过程中继续用西帕葡糖苷酶α/麦格司他的受试者,使用西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗的益处得以维持。在研究ATB200-07中,从阿葡糖苷酶α/安慰剂转换为西帕葡糖苷酶α/麦格司他的受试者在大多数终点上表现出稳定性或改善。对于在研究ATB200-07整个过程中继续用西帕葡糖苷酶α/麦格司他的受试者,在研究ATB200-03整个过程中,预测坐姿FVC%相对于基线略有衰退,然后在研究ATB200-07整个过程中稳定。对于在研究ATB200-07中从阿葡糖苷酶α/安慰剂转换为西帕葡糖苷酶α/麦格司他的受试者,在研究ATB200-03中预测坐姿FVC%显示大幅衰退,然后在研究ATB200-07整个过程中稳定在较低水平。总体而言,这些结果支持西帕葡糖苷酶α/麦格司他对LOPD患者的益处。

[0603] 对于在研究ATB200-03和ATB200-07整个过程中接受西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗的OLE-ES群体中的受试者,CK和Hex4在研究ATB200-03整个过程中大幅衰退,然后在研究ATB200-07整个过程中稳定。对于在研究ATB200-07中转换为西帕葡糖苷酶α/麦格司他的受试者,当受试者用阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗时,CK在至第52周总体上稳定在研究ATB200-03基线值或略微高于该基线值,然后在受试者转换为西帕葡糖苷酶α/麦格司他后,至第104周大幅衰退。受试者接受阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗时Hex4的水平从研究ATB200-03基线增加直到第52周,然后在受试者转换为西帕葡糖苷酶α/麦格司他后大幅减少直到第104周。

[0604] 对经历过ERT的受试者和ERT初治受试者的分析支持总体群体的结果。

表56:功效评估总结—研究ATB200-07中第52周和第104周时相对于研究ATB200-03基线的变化(OLE-ES群体,不包括受试者4005-2511)

临床应答评估（选定的功效和药效学）	平均（SD）基线和第 52 周和第 104 周相对于 ATB200-03 基线的变化					
	西帕葡糖苷酶 α/麦格司他（n = 82）[a]			阿葡糖苷酶 α/安慰剂（n = 36）[a]		
	BSL	52-wk CFB	104-wk CFB	BSL	52-wk CFB	104-wk CFB
6MWD（米）	354.9（112.39）（n = 82）	20.6（42.27）（n = 81）	20.2（53.58）（n = 74）	351.7（122.96）（n = 36）	8.0（40.56）（n = 36）	3.3（56.24）（n = 33）
坐姿 FVC（%预测）	70.7（19.92）（n = 82）	-1.1（6.32）（n = 74）	-1.6（7.45）（n = 70）	69.5（21.75）（n = 36）	-3.6（4.70）（n = 32）	-3.6（6.18）（n = 29）
MMT（下肢得分）	27.9（5.85）（n = 81）	1.6（3.91）（n = 73）	1.8（4.16）（n = 68）	27.8（6.23）（n = 33）	0.9（2.65）（n = 32）	1.1（2.91）（n = 27）

临床应答评估（选定的功效和药效学）	平均（SD）基线和第 52 周和第 104 周相对于 ATB200-03 基线的变化					
	西帕葡糖苷酶 α/麦格司他（n = 82）[a]			阿葡糖苷酶 α/安慰剂（n = 36）[a]		
	BSL	52-wk CFB	104-wk CFB	BSL	52-wk CFB	104-wk CFB
PROMIS-身体功能	67.0（12.41）（n = 81）	2.2（7.46）（n = 80）	2.3（9.11）（n = 75）	67.9（13.27）（n = 36）	0.3（10.97）（n = 36）	-0.4（10.52）（n = 33）
PROMIS-疲劳	22.1（8.40）（n = 82）	-2.3（5.79）（n = 80）	-1.6（5.88）（n = 74）	21.2（6.12）（n = 36）	-1.7（6.72）（n = 36）	-0.1（7.94）（n = 33）
GSGC	14.4（5.25）（n = 71）	-0.6（2.65）（n = 59）	-1.0（2.72）（n = 58）	14.3（4.69）（n = 31）	0.9（1.93）（n = 25）	0.3（2.75）（n = 25）
CK	440.6（403.15）（n = 82）	-129.1（234.12）（n = 77）	-154.9（224.89）（n = 67）	527.4（432.62）（n = 36）	41.0（140.15）（n = 35）	-173.6（276.06）（n = 32）
Hex4	4.6（3.36）（n = 81）	-2.0（2.52）（n = 72）	-2.1（3.07）（n = 73）	7.0（7.01）（n = 36）	1.6（4.50）（n = 33）	-2.7（3.48）（n = 32）

缩写:6MWD＝6分钟步行距离;BSL＝基线;CFB＝相对于基线的变化;CK＝肌酸激酶;FVC＝用力肺活量;GSGC＝步态、楼梯、高尔斯动作和椅子测试;Hex4＝己糖四糖;MMT＝徒手肌力测试;n＝受试者数量;PROMIS＝患者报告的结果测量信息系统;wk＝周

注意:第52周＝研究ATB200-07基线。

注意:对于PROMIS-疲劳和GSGC,减少表示改善。

[a]在研究ATB200-03基线处的n。括号中显示了基线时n的任何差异。

实例21:跨研究功效结果的比较

[0605] 本提交材料中包含的详细功效结果是针对上述三项单独研究呈现的。由于研究设计和方法的固有差异,表57和表58中研究ATB200-03/07和ATB200-02的功效比较仅限于6MWD和预测FVC％。研究ATB200-03/07的数据不包括离群值。请注意,阿葡糖苷酶α/西帕葡糖苷酶α组的数据代表先用阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗12个月,然后再用西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗12个月。在研究ATB200-03中观察到的以及在研究ATB200-07中保持的6MWD和预测FVC％的益处得到研究ATB200-02的定向一致结果的支持。请注意,在研究ATB200-02中观察到的预测FVC％的改善发生在基线低于研究ATB200-03中那些的受试者中。

表57:研究ATB200-03/07和ATB200-02中6MWD结果的比较

群体	研究	治疗	N（在基线处）	基线均数（SD）	CFBL M12（W52）均数（SD）	CFBL M24（W104）均数（SD）
经历过 ERT	ATB200-03/07	阿葡糖苷酶α/西帕葡糖苷酶α	29	335.0 (116.03)	0.7 (39.84)	-8.8 (46.19)
		西帕葡糖苷酶α	62	342.4 (110.40)	16.3 (39.46)	14.2 (53.44)
	ATB200-02	西帕葡糖苷酶α	16[a]	393.5 (119.66)	33.5 (49.62)	25.2 (63.30)
ERT 初治	ATB200-03/07	阿葡糖苷酶α/西帕葡糖苷酶α	7	420.9 (135.75)	38.3 (29.32)	48.3 (70.56)
		西帕葡糖苷酶α	20	393.6 (112.39)	33.4 (48.70)	38.8 (51.03)
	ATB200-02	西帕葡糖苷酶α	6[b]	396.0 (75.20)	57.0 (29.96)	54.4 (36.18)

缩写:6MWD＝6分钟步行距离;CFBL＝相对于基线的变化;ERT＝酶替代疗法;M＝月;N＝每个治疗组中的受试者数量;SD＝标准偏差;W＝周

[a]队列1和队列4组合

[b]队列3

表58:研究ATB200-03/07和ATB200-02中预测FVC％结果的比较

群体	研究	治疗	N（在基线处）	基线均数（SD）	CFBL M12（W52）均数（SD）	CFBL M24（W104）均数（SD）

群体	研究	治疗	N（在基线处）	基线均数（SD）	CFBL M12（W52）均数（SD）	CFBL M24（W104）均数（SD）
经历过 ERT	ATB200-03/07	阿葡糖苷酶 α/西帕葡糖苷酶 α	29	67.2（21.29	-3.5（4.72）	-3.8（6.23）
		西帕葡糖苷酶 α	62	67.7（19.48）	0.1（5.94）	-0.6（7.50）
	ATB200-02	西帕葡糖苷酶 α	16[a]	57.4（17.42）	-1.2（5.95）	1.0（7.96）
ERT 初治	ATB200-03/07	阿葡糖苷酶 α	7	79.1（22.58）	-4.0（5.05）	-3.1（6.66）
		西帕葡糖苷酶 α	20	80.2（18.69）	-4.7（6.20）	-4.8（6.48）
	ATB200-02	西帕葡糖苷酶 α	6[b]	57.2（20.84）	3.2（8.42）	4.7（5.09）

缩写:CFBL＝相对于基线的变化;ERT＝酶替代疗法;FVC＝用力肺活量;M＝月;N＝治疗组中的受试者数量;SD＝标准偏差;W＝周

[a]队列1和队列4组合

[b]队列3

综合功效,包括离群值受试者

[0606] 本节中介绍的汇总功效分析包括离群值(汇总2)。这些汇总分析的结果与研究ATB200-03的结果一致。还进行了排除离群值受试者(汇总2A)的汇总功效分析。这些分析表明,西帕葡糖苷酶α/麦格司他组的6MWD改善和FVC稳定保持超过24个月。

6MWT

[0607] 数据表明在接受西帕葡糖苷酶α/麦格司他的受试者中6MWD的初始改善保持大于基线至>24个月。西帕葡糖苷酶α/麦格司他组的6MWD的平均(SD)改善在≤15个月时为17.1(44.92)米(n＝143),在>15至≤24个月时为17.7(55.61)米(n＝108),以及在>24个月时为9.7(67.13)米(n＝70)。没有阿葡糖苷酶α/安慰剂组的长期数据可用,因为在研究ATB200-07中所有受试者都转换为西帕葡糖苷酶α/麦格司他。

[0608] 预测6MWD%的数据表明,在至少24个月的治疗施用后接受西帕葡糖苷酶α/麦格司他的受试者具有相似的模式。西帕葡糖苷酶α/麦格司他组预测6MWD%的平均(SD)改善为

3.3(10.84)(n＝70)。

[0609] 6MWD和预测6MWD％的改善高于基线维持超过24个月,包括或排除离群值。汇总的功效数据的按暴露时间区间的6MWD总结呈现在表59中,包括离群值。

表59:按暴露时间区间的6MWD(米)的总结(汇总2:研究ATB200-02/03/07-包括离群值在内的功效群体)

	西帕葡糖苷酶α/麦格司他（N＝143）			阿葡糖苷酶α/安慰剂（N＝38）
	≤15个月（N＝143）	＞15至≤24个月（N＝121）	＞24个月（N＝100）	≤15个月（N＝38）
基线[a]				
n	143	108	70	38
均数（SD）	367.10 (120.278)	366.33 (105.788)	367.77 (105.001)	350.14 (119.776)
中位数（min，max）	373.75（67.0，675.4）	369.25（79.0，575.0）	376.43（105.0，575.0）	358.45（112.5，623.0）
相对于基线的变化[b]				
n	143	108	70	38
均数（SD）	17.13 (44.916)	17.67 (55.609)	9.67 (67.129)	16.40 (69.027)
中位数（min，max）	12.00（-78.0，179.5）	11.75（-173.1，185.5）	5.23（-260.0，179.5）	3.15（-55.6，355.2）

缩写:6MWD＝6分钟步行距离;max＝最大值;min＝最小值;N＝每个治疗组中的受试者数量;n＝具有可用数据的受试者数量;SAP＝统计分析计划;SCE＝临床功效总结;SD＝标准偏差

[a]对于研究ATB200-02和ATB200-03,基线与研究基线相同。对于研究ATB200-07,研究ATB200-03的扩展,基线取决于受试者在研究ATB200-03中随机分配到的治疗组。详细定义参见SCE SAP。

[b]相对于基线的变化＝最后一个可用的基线后值-基线值,不对缺失值进行插补

肺功能

[0610] 数据表明接受西帕葡糖苷酶α/麦格司他的受试者在>24个月时预测的FVC％略有下降,但下降幅度稍微更大。西帕葡糖苷酶α/麦格司他组FVC相对于基线的平均(SD)变化在≤15个月时为-0.74(6.121)(n＝139),在>15至≤24个月时为-0.88(7.103)(n＝97),以及在>24个月时为-2.55(8.393)(n＝68)。没有阿葡糖苷酶α/安慰剂组的长期数据可用,因为在研究ATB200-07中所有受试者都转换为西帕葡糖苷酶α/麦格司他。FVC的这些改善维持超过24个月,其中包括或排除离群值。汇总的功效数据的按暴露时间区间的预测坐姿FVC％的总结呈现在表60中,包括离群值。

表60:按暴露时间区间的预测坐姿FVC％的总结(汇总2:研究ATB200-02/03/07-包括离群值在内的功效群体)

	西帕葡糖苷酶α/麦格司他（N＝143）			阿葡糖苷酶α/安慰剂（N＝38）
	≤15个月（N＝143）	>15至≤24个月（N＝121）	>24个月（N＝100）	≤15个月（N＝38）
基线[a]				
n	139	97	68	38
均数（SD）	67.51 (19.836)	66.89 (20.174)	67.15 (19.174)	70.04 (21.301)
中位数（min, max）	68.00 (30.5，132.5)	67.50 (30.5，132.5)	69.00 (31.0，107.0)	71.25 (31.5，122.0)
相对于基线的变化[b]				
n	139	97	68	38
均数（SD）	-0.74（6.121）	-0.88（7.103）	-2.55（8.393）	-3.64（5.170）

	西帕葡糖苷酶α/麦格司他（N＝143）			阿葡糖苷酶α/安慰剂（N＝38）
	≤15个月（N＝143）	>15至≤24个月（N＝121）	>24个月（N＝100）	≤15个月（N＝38）
中位数（min, max）	-1.00 (-16.0，22.5)	-1.00 (-24.0，17.0)	-2.25 - (-25.0，17.0)	-3.00 (-19.5，7.5)

缩写:FVC＝用力肺活量;max＝最大值;min＝最小值;N＝每个治疗组中的受试者数量;n＝具有可用数据的受试者数量;SAP＝统计分析计划;SCE＝临床功效总结;SD＝标准偏差

[a]对于研究ATB200-02和ATB200-03,基线与研究基线相同。对于研究ATB200-07,研究ATB200-03的扩展,基线取决于受试者在研究ATB200-03中随机分配到的治疗组。详细定义参见SCE SAP。

[b]相对于基线的变化＝最后一个可用的基线后值-基线值,不对缺失值进行插补

MMT

[0611] 数据表明,在接受西帕葡糖苷酶α/麦格司他的受试者中,MMT下肢得分相对于基线的初始改善维持超出>24个月。在暴露于≤15个月(n＝135)的受试者中,西帕葡糖苷酶α/麦格司他组的MMT下肢得分相对于基线的平均(SD)变化为1.36(3.807),>15至≤24个月时为1.73(3.675)(n＝101),以及>24个月时为1.98(4.527)(n＝65)。MMT的这些改善维持超过24个月,其中包括或排除离群值。

GSGC

[0612] 数据表明,在接受西帕葡糖苷酶α/麦格司他的受试者中,GSGC总得分相对于基线的初始改善维持并进一步改善超出>24个月。在暴露于≤15个月(n＝123)的受试者中,西帕葡糖苷酶α/麦格司他组的GSGC总得分相对于基线的平均(SD)变化为-0.51(2.947),>15至

≤24个月时为-0.86(3.086)(n＝87),以及>24个月时为-1.12(3.586)(n＝56)。请注意,负得分表示改善。GSGC的这些改善维持超过24个月,其中包括或排除离群值。

亚组分析

[0613] 按以下亚组和暴露时间区间(≤15个月、>15至≤24个月、>24个月)对汇总的疗效数据进行分析:

• 性别:男性或女性

• ERT状态(分类为经历过ERT相比于ERT初治)

• 种族:白种人、日本人、亚洲人(不包括日本人)、黑人或非裔美国人和其他(或白种人、非白种人)

• 基线6MWD(分类为75至<150米、150至<400米和≥400米)

• 年龄:≥18至<35岁,≥35至<50岁,≥50至<65岁,以及≥65岁

• 之前的ERT持续时间:≥2至<3岁,≥3至<5岁,≥5至<8岁,以及≥8岁

• 之前的输注相关反应:有和无

[0614] 亚组的功效结果与总体群体的结果基本一致。尽管许多亚组的样品量有限,而且应仔细解释结果,但下文指出了6MWD相对于基线的变化的在亚组之间的一些差异。对于种族,非白种人受试者太少无法解释这些亚组分析。

[0615] 对于6MWD相对于基线的变化,男性和女性的结果之间没有显著差异,或者根据先前ERT暴露的持续时间或基于IAR的历史,在经历过ERT的受试者中没有显著差异。虽然CI有重叠,但一致观察到,与经历过ERT的受试者相比,ERT初治受试者的6MWD相对于基线的平均变化更大,对于暴露少于15个月的受试者(用西帕葡糖苷酶α/麦格司他或阿葡糖苷酶α/安慰剂),ERT亚组之间存在明显差异。同样,虽然基线6MWD极低的受试者数量非常少,但一致观察到基线6MWD较高的受试者比基线6MWD最低的受试者相对于基线的改善更大。跨年龄组的观察结果也值得注意,观察到随着年龄的增加改善程度较低,最显著的差异出现在最年长的年龄组,尽管≥65岁的受试者数量很少。

[0616] 对于预测FVC％相对于基线的变化,在男性和女性、经历过ERT相比于ERT初治、基线6MWD、年龄类别,或在经历过ERT的受试者之间,根据之前ERT暴露的持续时间或基于IAR的历史,结果没有显著差异。

实例23:功效和/或耐受性

[0617] ATB200-02、ATB200-03和ATB200-07研究的长期数据支持西帕葡糖苷酶α/麦格司他功效的持久性和持续性。对照研究ATB200-03的数据显示从开始到第52周持续改善,跨研究综合分析的数据显示改善维持或持续>24个月。研究ATB200-02表明改善可以维持或持续长达48个月。

[0618] 来自3项成人庞贝病临床研究的功效数据被汇总和分析,以进一步支持西帕葡糖苷酶α/麦格司他在成人受试者中的长期功效。来自不能行走的受试者(研究ATB200-02队列2)的数据未包括在汇总中,因为该组的功效终点(例如6MWD和下肢MMT)与各种能行走组几乎没有重叠。

[0619] 3项成人庞贝病临床研究汇总如下:

• 西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗组由以下组成:

o研究ATB200-02中的所有能行走受试者(队列1、3和4),

o在研究ATB200-03中,所有受试者随机分配到西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗组,以及

o所有受试者都参加了研究ATB200-07。

• 阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗组由以下组成:

o在研究ATB200-03中,所有受试者随机分配到ERT治疗组。

[0620] 在研究ATB200-02、ATB200-03和ATB200-07中,共有151名患有LOPD的受试者暴露于西帕葡糖苷酶α/麦格司他。平均(SD)暴露持续时间为28.0(14.27)个月,105名受试者暴露超过24个月。任何受试者的最长西帕葡糖苷酶α/麦格司他暴露为64.9个月。请注意,所有完成研究ATB200-03的受试者都参加了研究ATB200-07,并继续或开始用西帕葡糖苷酶α/麦格司他进行治疗。

[0621] 研究ATB200-02的长期数据也支持,西帕葡糖苷酶α/麦格司他的作用是持久的并维持48个月。截至2021年12月13日的数据截止,共有29名受试者参加研究ATB200-02并接受治疗,大多数受试者的暴露≥48个月。研究ATB200-02中主要庞贝病领域的功效结果总结见表26。简而言之,无论ERT经历如何,跨队列在能行走受试者中在第一年观察到的运动功能改善都得到了维持。治疗还导致ERT初治受试者的PFT得到改善,而经历过ERT的受试者的PFT则稳定或改善,无论能行走状态如何(如通过预测FVC%、MIP、MEP和SNIP所测量的),以及能行走和不能行走受试者的所有测试身体部位的肌肉力量的稳定或改善(如通过MMT所测量的)。改善持续长达暴露的48个月。

[0622] 来自研究ATB200-03、研究ATB200-07的开放标签扩展的长期数据支持西帕葡糖苷酶α/麦格司他的作用至少维持24个月。截至2022年1月11日的数据截止,共有118名受试者参加研究ATB200-07并接受治疗,其中79名受试者的暴露>24个月。研究ATB200-07中主要庞贝病领域的功效结果总结见表56。简而言之,在研究ATB200-03整个过程中,两个治疗组的6个主要终点(即6MWD、MMT下肢、PROMIS-身体功能、PROMIS-疲劳和GSGC得分)中的大多数保持稳定或改善。对于在研究ATB200-07整个过程中继续用西帕葡糖苷酶α/麦格司他的受试者,使用西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗的益处得以维持。在研究ATB200-07中,从阿葡糖苷酶α/安慰剂转换为西帕葡糖苷酶α/麦格司他的受试者在大多数终点上表现出稳定性或改善。对于坐姿预测FVC%,在研究ATB200-07整个过程中继续用西帕葡糖苷酶α/麦格司他的受试者在研究ATB200-03整个过程中显示相对于基线略有衰退,然后在研究ATB200-07整个过程中稳定。在研究ATB200-07中从阿葡糖苷酶α/安慰剂转换为西帕葡糖苷酶α/麦格司他的受试者在研究ATB200-03中显示大幅衰退,然后在研究ATB200-07整个过程中稳定在较低水平。

[0623] 对于在研究ATB200-03和ATB200-07整个过程中接受西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗的OLE-ES群体中的受试者,CK和Hex4在研究ATB200-03整个过程中大幅衰退,然后在研究ATB200-07整个过程中稳定。对于在研究ATB200-07中转换为西帕葡糖苷酶α/麦格司他的受试者,当受试者用阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗时,CK在至第52周总体上稳定在研究ATB200-03基线值或略微高于该基线值,然后在受试者转换为西帕葡糖苷酶α/麦格司他后,至第104周大幅衰退。受试者接受阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗时Hex4的水平从研究ATB200-03基线增加直到第52周,然后在受试者转换为西帕葡糖苷酶α/麦格司他后大幅减少直到第104周。

[0624] 跨研究ATB200-02、ATB200-03和ATB200-07的综合功效分析表明,西帕葡糖苷酶α/

麦格司他的作用是持久的并维持24个月。

结论

[0625] 庞贝病是一种单基因疾病,直接归因于编码GAA的基因突变以及由此导致的GAA缺乏,主要发生在心脏、骨骼肌和肝脏,导致溶酶体糖原累积和相关疾病病理生理学。阿葡糖苷酶α已证明IV ERT连同rhGAA对庞贝病患者的临床益处,显示出FVC和其他参数的初步改善。然而,如上所述,在过去十年中,临床证据表明,即使采用ERT治疗,疾病负担仍然很高,并且显著发病率仍然存在。在初步改善后,许多接受阿葡糖苷酶α治疗的患者继续衰退,以至于他们需要行走支持和呼吸机支持。西帕葡糖苷酶α/麦格司他解决了重要的机制和临床未满足的需求,需要更有效的疗法来治疗庞贝病。

[0626] 在关键研究ATB200-03中,在总体群体中,相比于阿葡糖苷酶α/安慰剂,评估运动功能、肺功能和肌肉力量的关键研究终点相对于基线有所改善并且有利于西帕葡糖苷酶α/麦格司他。接受西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗的受试者平均比基线多走21米,而接受阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗的受试者为7米,相差14米(p=0.071)。

[0627] 在第一个关键次要终点(坐姿预测FVC%)上,用西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗的受试者表现出0.9%的绝对衰退,而阿葡糖苷酶α/安慰剂组表现出4.0%的绝对衰退,差异为3.0%,这在名义上具有统计学显著性并且代表FVC的具有临床意义的稳定(p=0.023)。FVC方面相比于阿葡糖苷酶α/安慰剂的这种相对益处与在3期研究中观察到阿葡糖苷酶α相比于安慰剂的益处幅度相似,并且根据医学文献中报道的最小临床重要差异(MCID),该益处被认为对患者具有临床意义。

[0628] 为了进一步支持西帕葡糖苷酶α/麦格司他对主要终点和关键次要终点(6MWD和FVC%)的治疗效果的显著性和一致性,进行了一项事后全局测试来评估西帕葡糖苷酶α/麦格司他相比于阿葡糖苷酶α/安慰剂的优势。该全局测试表明,与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比,接受西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗的受试者有更大的改善(p=0.010),并支持在所研究的不同群体中分别在每个终点上观察到的结果。

[0629] 对于西帕葡糖苷酶α/麦格司他在6MWD和FVC方面观察到的结果代表了与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比对患者具有临床意义的改善。对于FVC,相对于阿葡糖苷酶α/安慰剂,用西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗的受试者的3%平均改善表明具有临床意义的组水平改善,并且与阿葡糖苷酶α本身相比于安慰剂显示出的具有临床意义的改善幅度相似。另外的患者水平应答者分析表明,分别对于6MWD(p=0.018)和FVC(p=0.011),以及对于6MWD和FVC两者(p=0.002),与用阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗的患者相比,用西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗的受试者中有更大比例的受试者有具有临床意义的改善,并且更小比例的受试者有具有临床意义的恶化。另外的敏感性分析表明,在一系列6MWD和FVC应答阈值中,与用阿葡糖苷酶α/安慰剂治疗的受试者相比,用西帕葡糖苷酶α/麦格司他治疗的受试者中有更大比例的受试者表现出具有临床意义的改善,并且更小比例的受试者表现出具有临床意义的恶化。包括运动功能和肌肉力量、肺功能以及PRO的另外的关键次要终点的结果支持所观察到的6MWD和预测FVC%的改善,这些终点在数值上均有利于西帕葡糖苷酶α/麦格司他。GSGC是一项功能独立性的综合量度,表明西帕葡糖苷酶α/麦格司他与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比的优势的名义上显著改善(p=0.009)。

[0630] 在有较高未满足需求的经历过ERT的群体中,与阿葡糖苷酶α相比,西帕葡糖苷酶

α/麦格司他在6MWD(差值为17米;p＝0.047)和预测FVC％(差值为4.1％;p＝0.006)方面均显示出具有临床意义和名义上具有统计学显著性的改善。继续使用阿葡糖苷酶α的受试者表现出6MWD没有变化并且FVC显著衰退,而转换为西帕葡糖苷酶α/麦格司他的受试者表现出6MWD的改善和FVC的稳定。对于ERT初治亚组,两个治疗组的受试者在6MWD和FVC变化方面表现出类似的有临床意义的改善。

[0631] 在肌肉骨骼和评估运动功能、肌肉力量和PRO的其他几个次要终点中,相比于阿葡糖苷酶α/安慰剂,绝大多数显示出改善并且定向有利于西帕葡糖苷酶α/麦格司他,这支持主要和关键次要终点的观察。简而言之,与批准的疗法阿葡糖苷酶α相比,西帕葡糖苷酶α/麦格司他改善了重要的庞贝病领域。此外,在糖原减少(Hex4)和肌肉损伤(CK)的关键生物标志物上,与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比,观察到名义上具有统计学显著性($p<0.001$)的减少,证实了强有力的机制性非临床证据。来自研究ATB200-02和ATB200-07的数据与研究ATB200-03一致,并提供了效果持久性的有力证据,其中改善和稳定性持续超过24个月。总而言之,临床研究的结果表明,西帕葡糖苷酶α/麦格司他满足了治疗庞贝病中对更有效的下一代疗法的显著需求。

高甘露糖和磷酸化寡糖的结构和受体亲和力

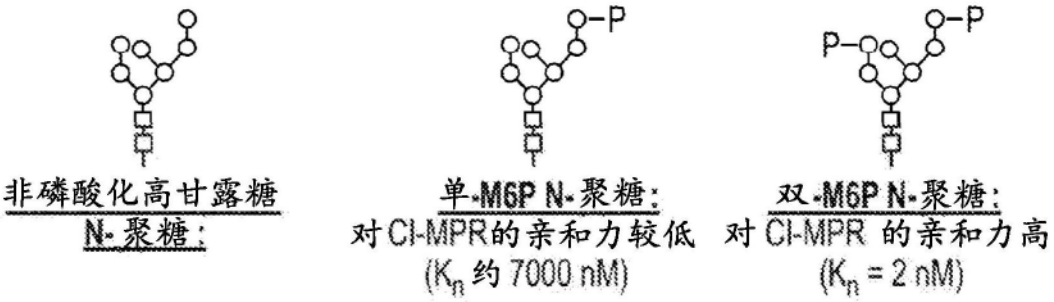


图1A

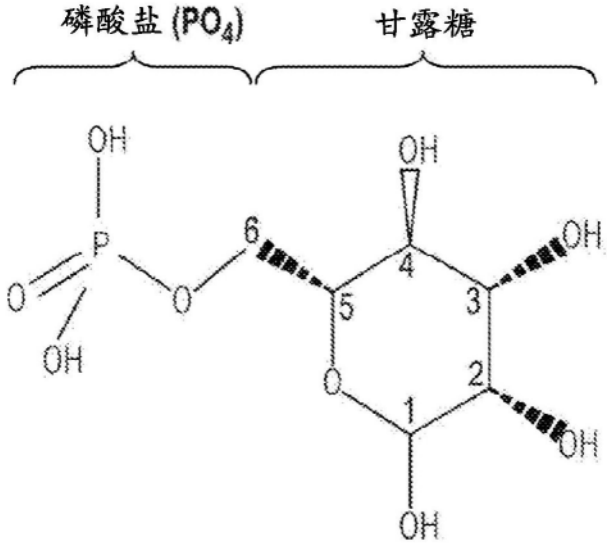


图1B

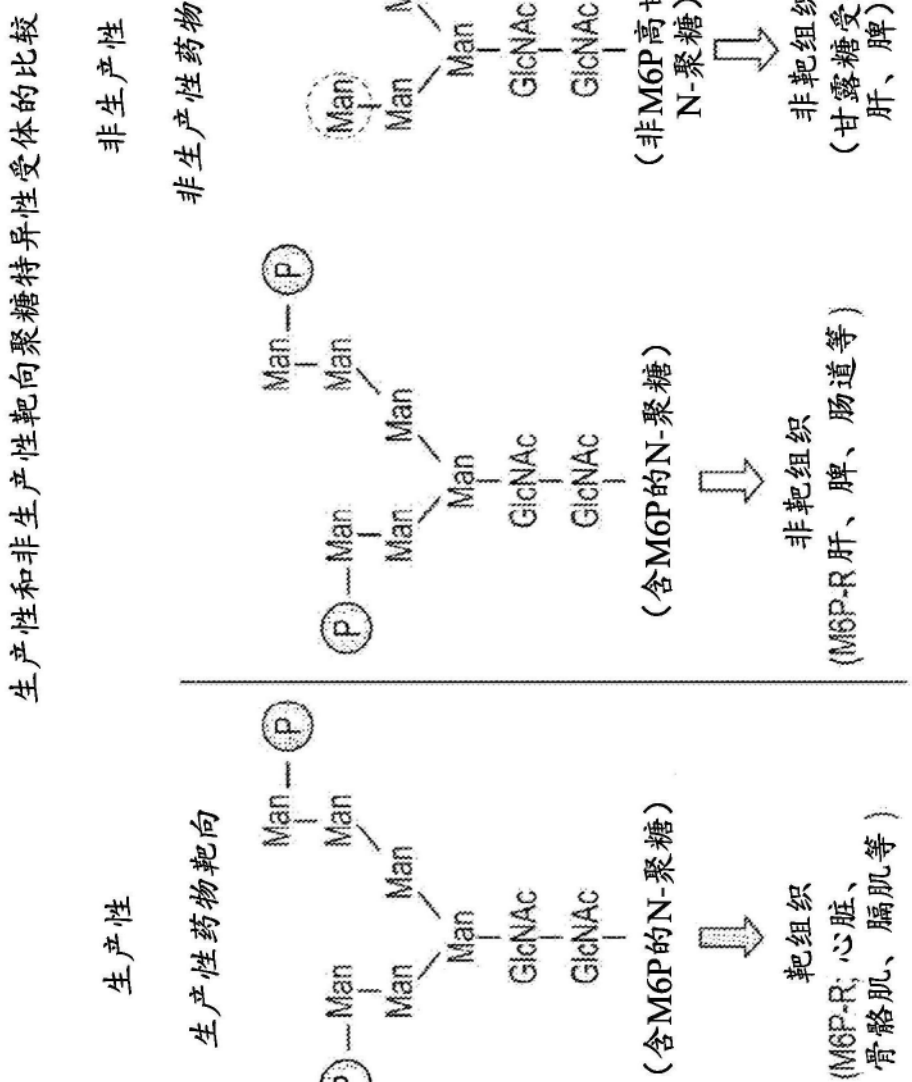

生产性和非生产性靶向聚糖特异性受体的比较
生产性
生产性药物靶向
(含M6P的N-聚糖)
靶组织
(M6P-R; 心脏、
骨骼肌、膈肌等)
非生产性
非生产性药物清除
(含M6P的N-聚糖)
非靶组织
(M6P-R 肝、脾、肠道等)
(非M6P高甘露糖
N-聚糖)
非靶组织
(甘露糖受体;
肝、脾)
(Asialyo-复合型
N- 聚糖)
非靶组织
(ASGP-R; 肝)
Man
GlcNAc
Gal
P

图 2A

图 2B

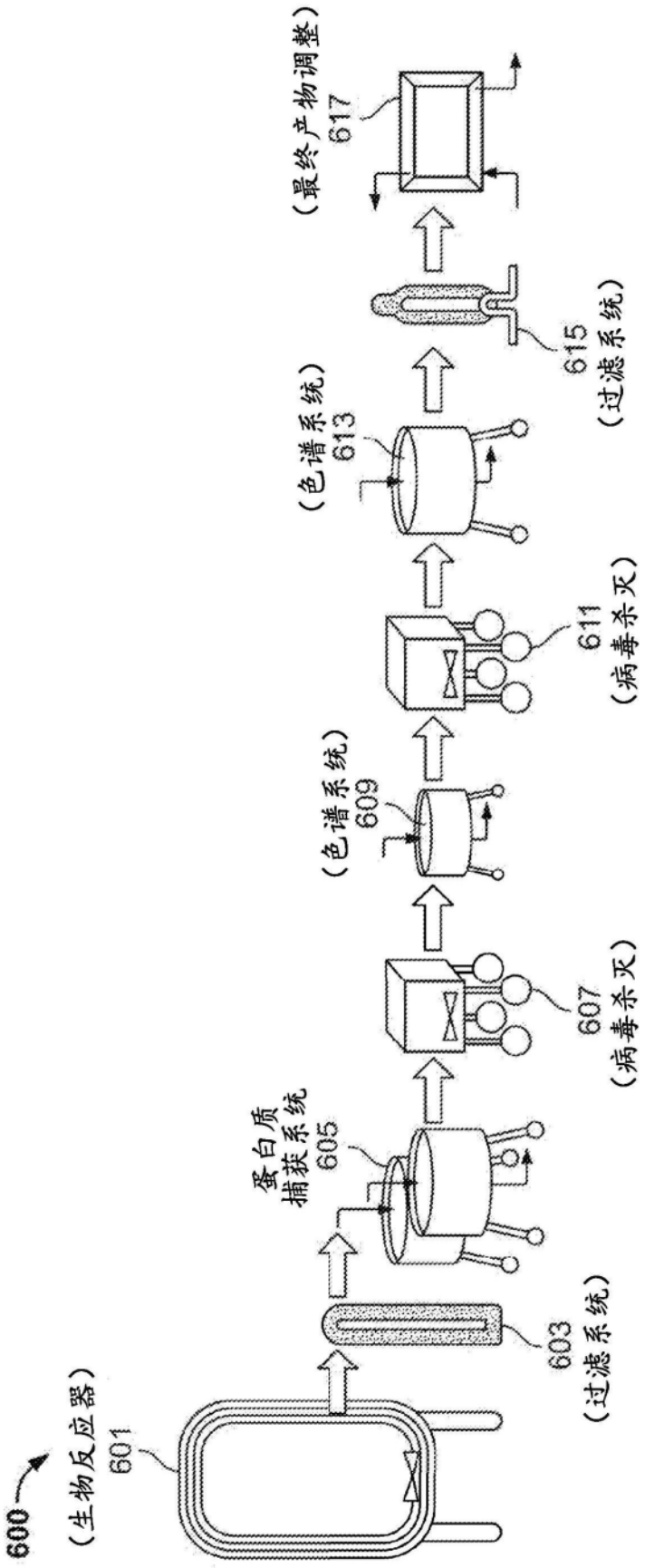

600
(生物反应器)
601
603
(过滤系统)
蛋白质
捕获系统
605
607
(病毒杀灭)
(色谱系统)
609
611
(病毒杀灭)
(色谱系统)
613
615
(过滤系统)
(最终产物调整)
617

图3

ATB200 载体构建

- 宿主细胞: DG44
- 载体 : pOptivec-110
  - 英杰公司载体
  - 952 aa, 天然信号肽
- 筛选压力： -HT、500nM MTX

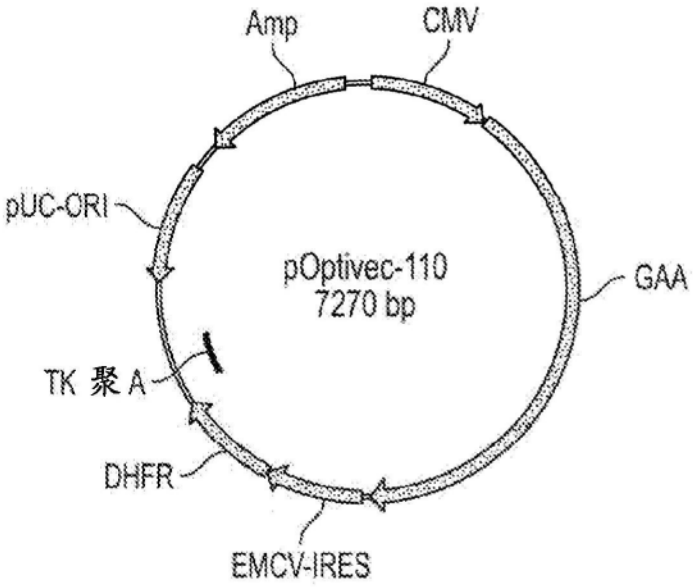


图4

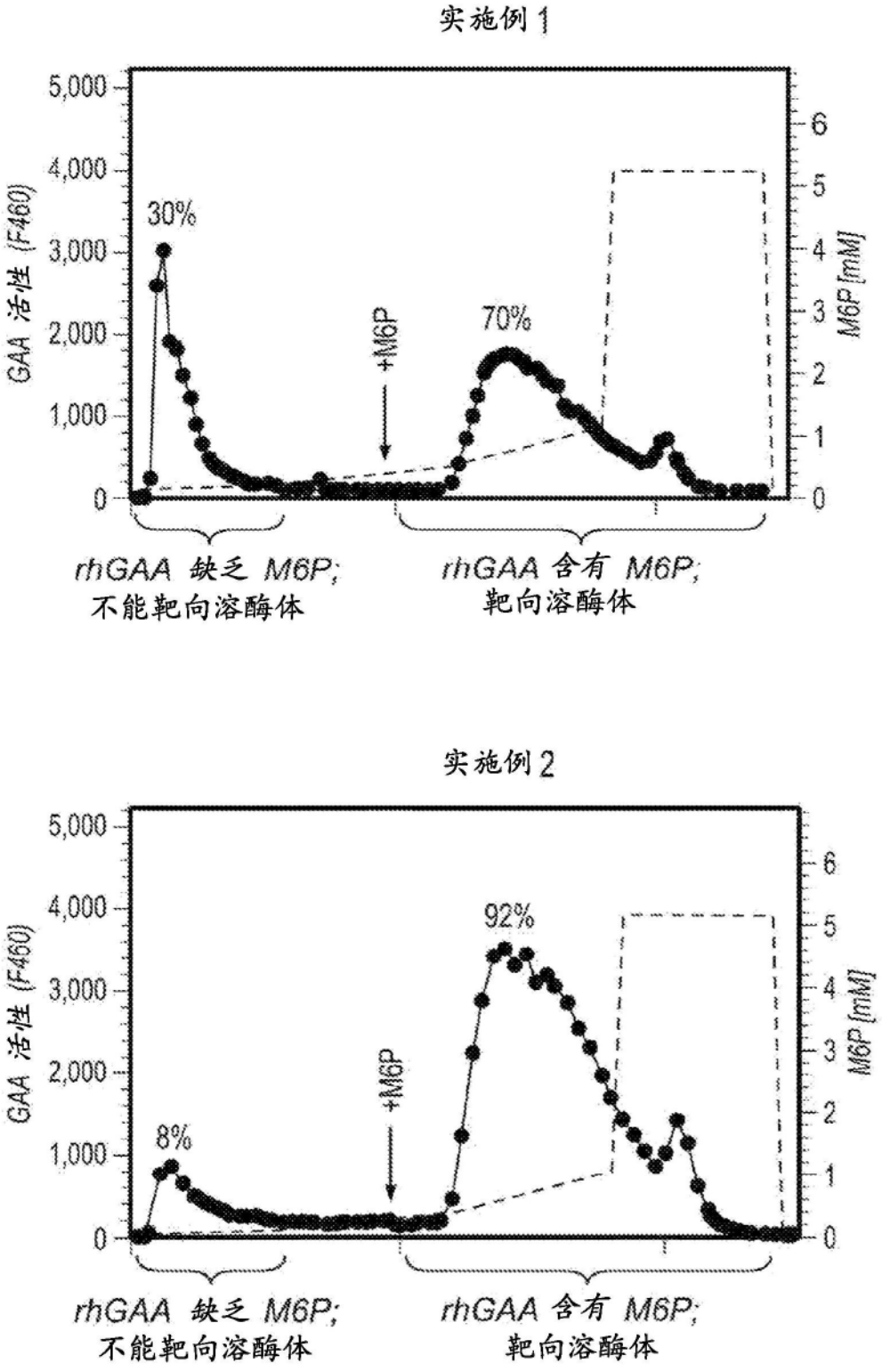

实施例 1
5,000
4,000
3,000
2,000
1,000
0
GAA 活性 (F460)
30%
+M6P
70%
6
5
4
3
2
1
0
M6P [mM]
rhGAA 缺乏 M6P;
不能靶向溶酶体
rhGAA 含有 M6P;
靶向溶酶体
实施例 2
5,000
4,000
3,000
2,000
1,000
0
GAA 活性 (F460)
8%
+M6P
92%
6
5
4
3
2
1
0
M6P [mM]
rhGAA 缺乏 M6P;
不能靶向溶酶体
rhGAA 含有 M6P;
靶向溶酶体

图5

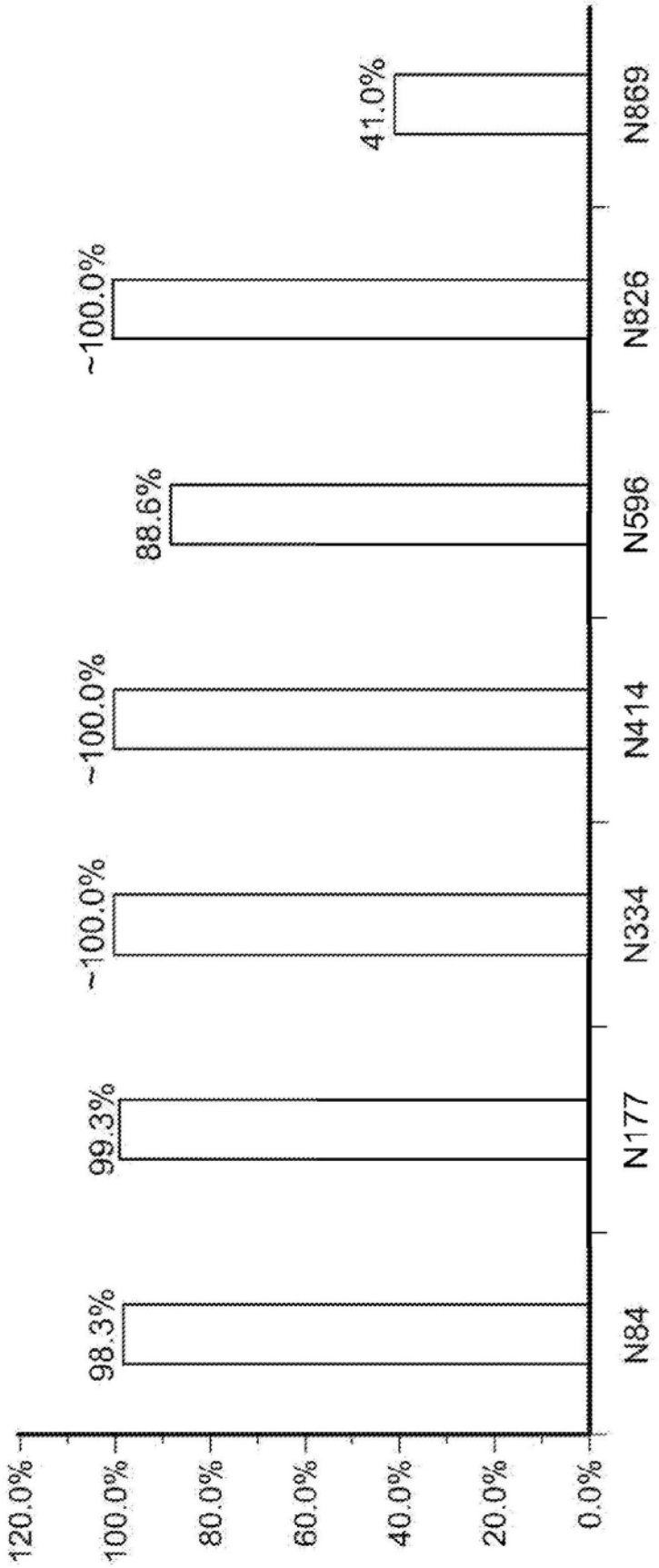

ATB200的N-糖基化位点占据率
120.0%
100.0%
80.0%
60.0%
40.0%
20.0%
0.0%
98.3%
99.3%
~100.0%
~100.0%
88.6%
~100.0%
41.0%
N84
N177
N334
N414
N596
N826
N869

图6A

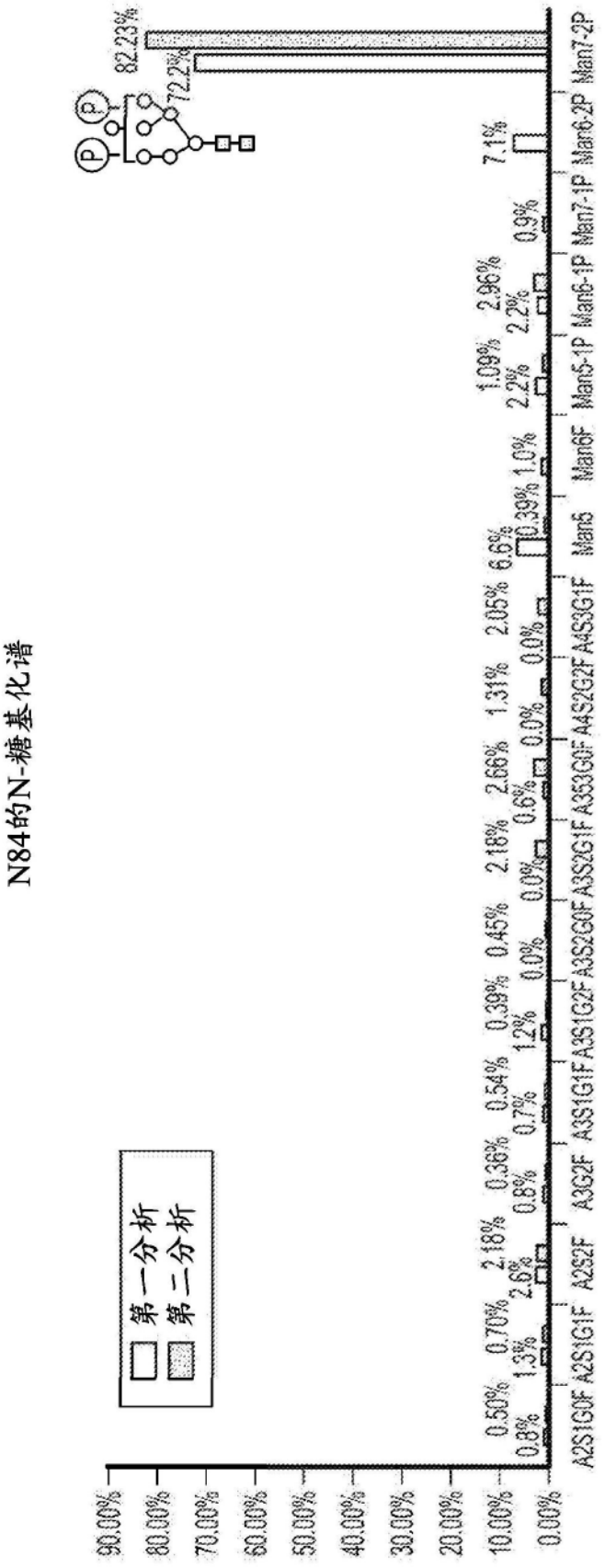

N84的N-糖基化谱
第一分析
第二分析
90.00%
80.00%
70.00%
60.00%
50.00%
40.00%
30.00%
20.00%
10.00%
0.00%
A2S1G0F
A2S1G1F
A2S2F
A3G2F
A3S1G1F
A3S1G2F
A3S2G0F
A3S2G1F
A3S3G0F
A4S2G2F
A4S3G1F
Man5
Man6F
Man5-1P
Man6-1P
Man7-1P
Man6-2P
Man7-2P
0.50%
0.8%
1.3%
0.70%
2.6%
2.18%
0.8%
0.36%
0.7%
0.54%
1.2%
0.39%
0.0%
0.45%
0.0%
2.18%
0.6%
2.66%
0.0%
1.31%
0.0%
2.05%
6.6%
0.39%
1.0%
1.09%
2.2%
2.2%
2.96%
0.9%
7.1%
72.2%
82.23%

图6B


N177的N-糖基化谱
第一分析
第二分析
70.00%
60.00%
50.00%
40.00%
30.00%
20.00%
10.00%
0.00%
A1G1
A1G4M5
A1S1M4
A1S1M4F
A1S1M5
A2G2M4F
A2G1
A2S1G1
A3G1
M4a4
M5a5
M6a6
M7a7
M8a8-1P
M7a7-1P
M7a7-2P
0.47%
0.69%
1.91%
0.64%
1.91%
4.29%
0.38%
1.52%
1.09%
3.19%
0.62%
2.66%
0.70%
38.84%
37.29%
2.75%
1.64%
0.69%
57.49%
40.58%
0.63%

图6C

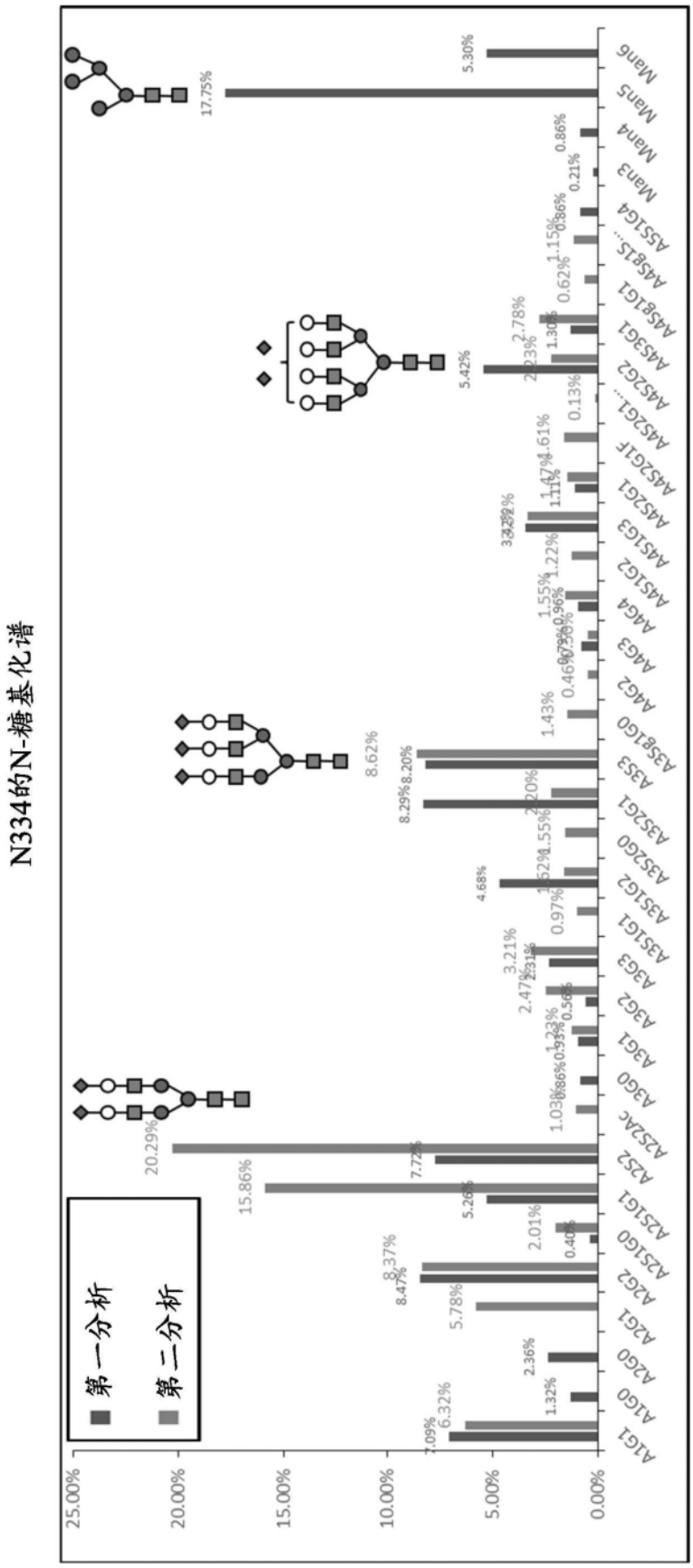

N334的N-糖基化谱
第一分析
第二分析
25.00%
20.00%
15.00%
10.00%
5.00%
0.00%
A1G1
A1G0
A2G0
A2G1
A2G2
A2S1G1
A2S1G0
A2S2
A2S2AC
A3G0
A3G1
A3G2
A3G3
A3S1G1
A3S1G2
A3S2G0
A3S2G1
A3S3
A3S3Ga0
A4G2
A4G3
A4G4
A4S1G2
A4S1G3
A4S2G1
A4S2G1F
A4S2G2...
A4S3G1
A4S4G1
A4S8I5...
A5S1G4
Man3
Man4
Man5
Man6
17.75%
20.29%
15.86%
8.62%
5.42%
5.30%

图6D

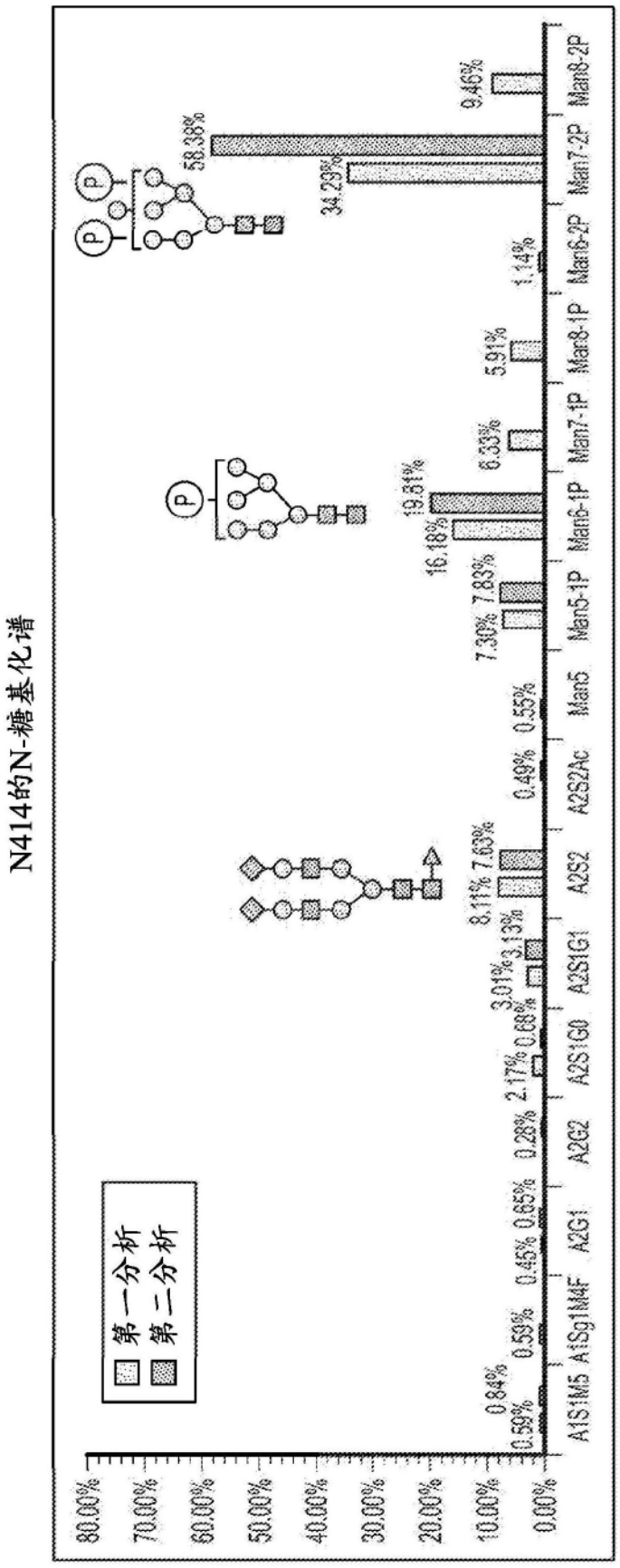

N414的N-糖基化谱
第一分析
第二分析
80.00%
70.00%
60.00%
50.00%
40.00%
30.00%
20.00%
10.00%
0.00%
0.84%
0.59%
0.59%
0.59%
0.45%
0.65%
0.28%
2.17%
0.68%
3.01%
3.13%
8.11%
7.63%
0.49%
0.55%
7.30%
7.83%
16.18%
19.31%
6.33%
5.91%
1.14%
34.29%
58.38%
9.46%
A1S1M5
A1Sg1M4F
A2G1
A2G2
A2S1G0
A2S1G1
A2S2
A2S2Ac
Man5
Man5-1P
Man6-1P
Man7-1P
Man8-1P
Man6-2P
Man7-2P
Man8-2P

图6E

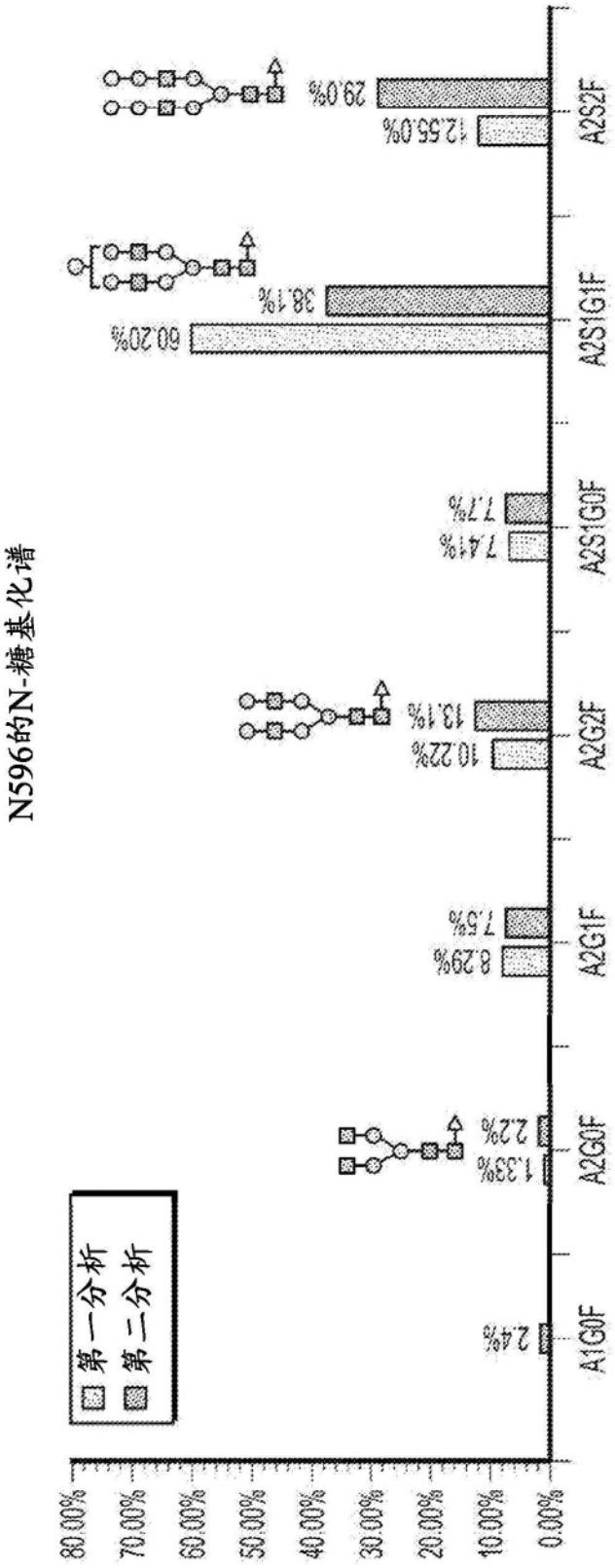

N596的N-糖基化谱
第一分析
第二分析
80.00%
70.00%
60.00%
50.00%
40.00%
30.00%
20.00%
10.00%
0.00%
2.4%
1.33%
2.2%
8.29%
7.5%
10.22%
13.1%
7.41%
7.7%
60.20%
38.1%
12.55.0%
29.0%
A1G0F
A2G0F
A2G1F
A2G2F
A2S1G0F
A2S1G1F
A2S2F

图6F

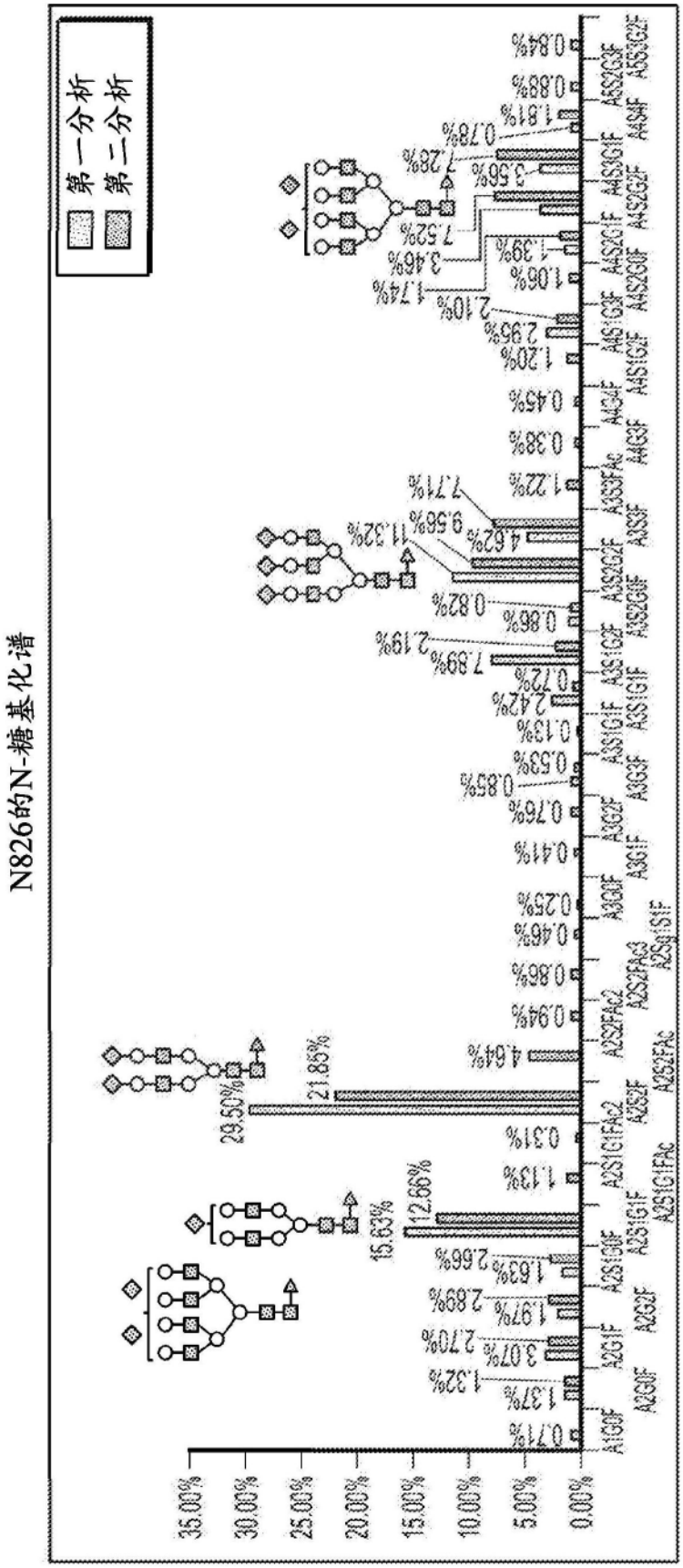

N826的N-糖基化谱
第一分析
第二分析
35.00%
30.00%
25.00%
20.00%
15.00%
10.00%
5.00%
0.00%
29.50%
21.85%
15.63%
12.66%
11.32%
7.89%
7.71%
7.52%
4.64%
4.62%
3.56%
3.46%
2.95%
2.66%
2.19%
2.10%
1.97%
1.81%
1.74%
1.63%
1.39%
1.37%
1.32%
1.22%
1.20%
1.13%
1.06%
0.94%
0.88%
0.86%
0.86%
0.85%
0.84%
0.82%
0.78%
0.76%
0.72%
0.71%
0.67%
0.59%
0.53%
0.45%
0.41%
0.38%
0.31%
0.29%
0.25%
0.13%

图6G

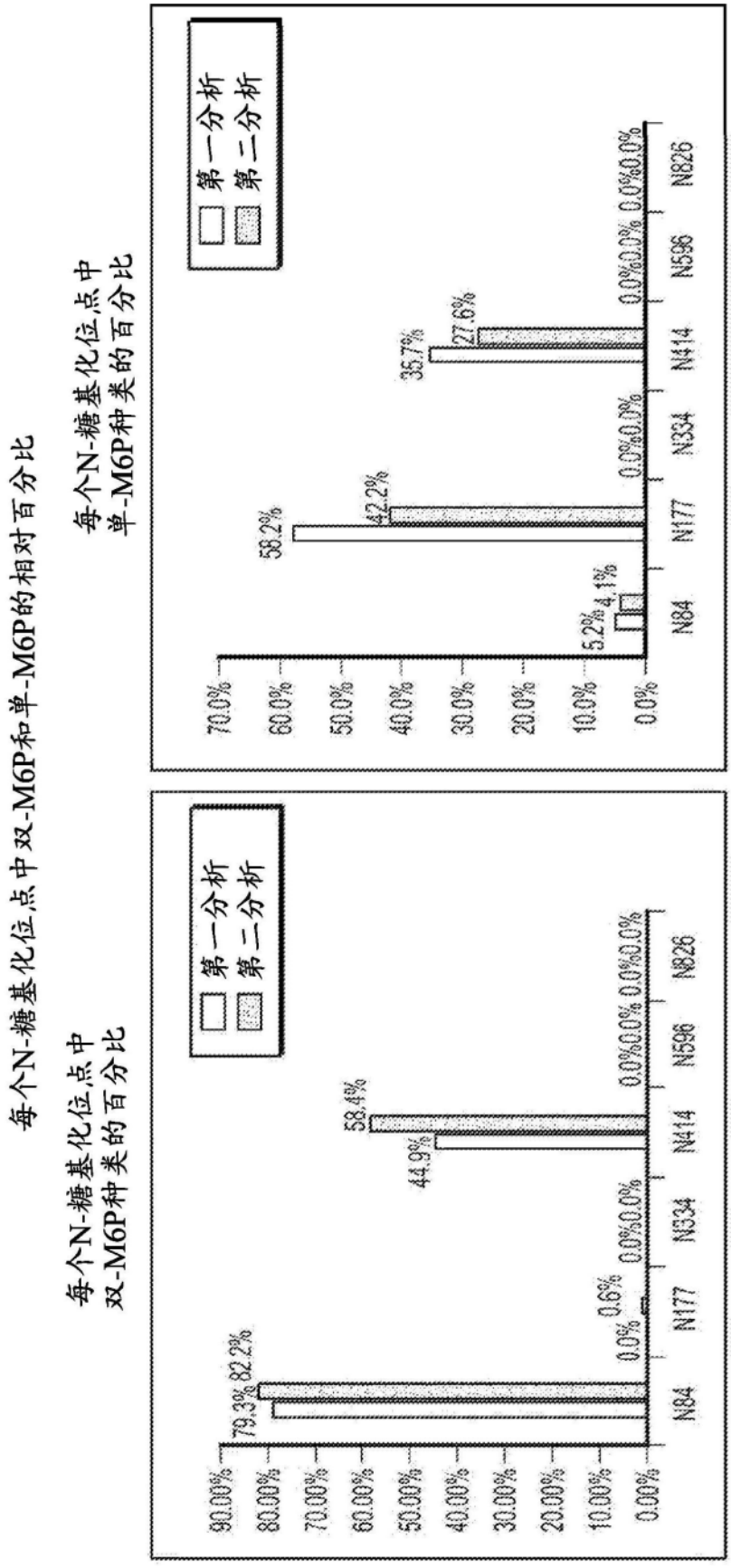

每个N-糖基化位点中双-M6P和单-M6P的相对百分比
每个N-糖基化位点中
双-M6P种类的百分比
第一分析
第二分析
90.00%
80.00%
70.00%
60.00%
50.00%
40.00%
30.00%
20.00%
10.00%
0.00%
79.3%
82.2%
0.0%
0.6%
0.0%0.0%
58.4%
44.9%
0.0%0.0%
0.0%0.0%
N84
N177
N334
N414
N596
N826
每个N-糖基化位点中
单-M6P种类的百分比
第一分析
第二分析
70.0%
60.0%
50.0%
40.0%
30.0%
20.0%
10.0%
0.0%
5.2%
4.1%
56.2%
42.2%
0.0%0.0%
35.7%
27.6%
0.0%0.0%
0.0%0.0%
N84
N177
N334
N414
N596
N826

图6H

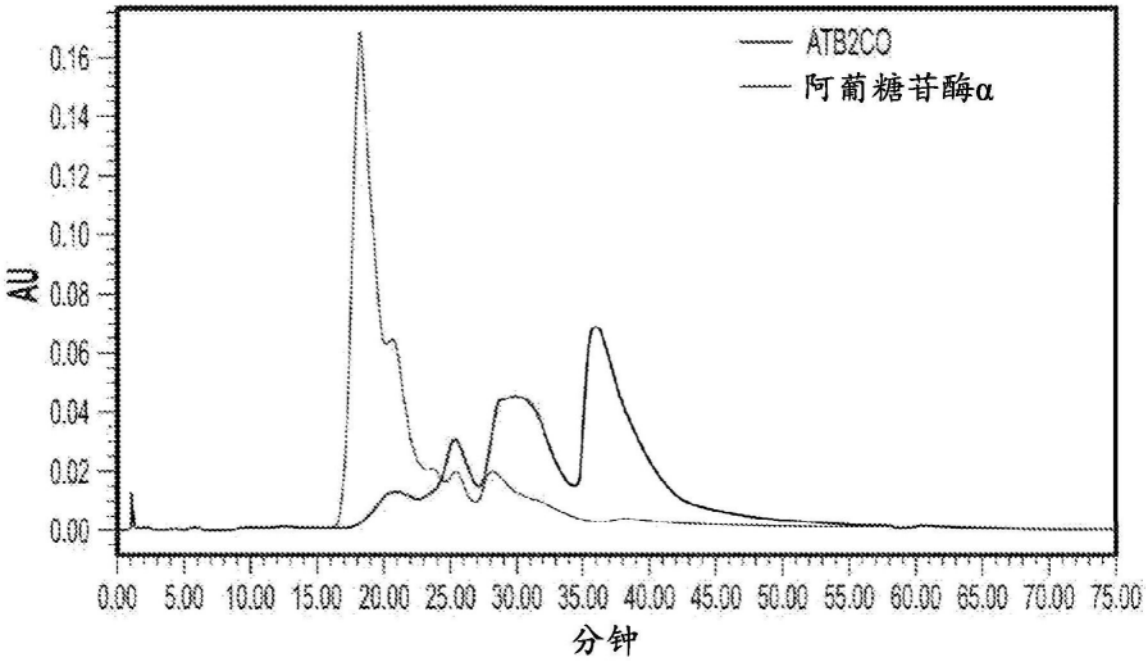


图7

rhGAA 制剂上N-聚糖的分布

	Lumizyme	BP-rhGAA*	ATB200	
			1	2
复合型N-聚糖	70.7%	48.9%	51.0%	47.5%
混合型N-聚糖	6.7%	9.7%	4.4%	3.7%
高甘露糖型N-聚糖:				
非磷酸化的	15.8%	23.7%	14.0%	9.9%
单-M6P	5.2%	10.4%	13.4%	14.2%
双-M6P	1.6%	6.8%	17.2%	24.7%

图8

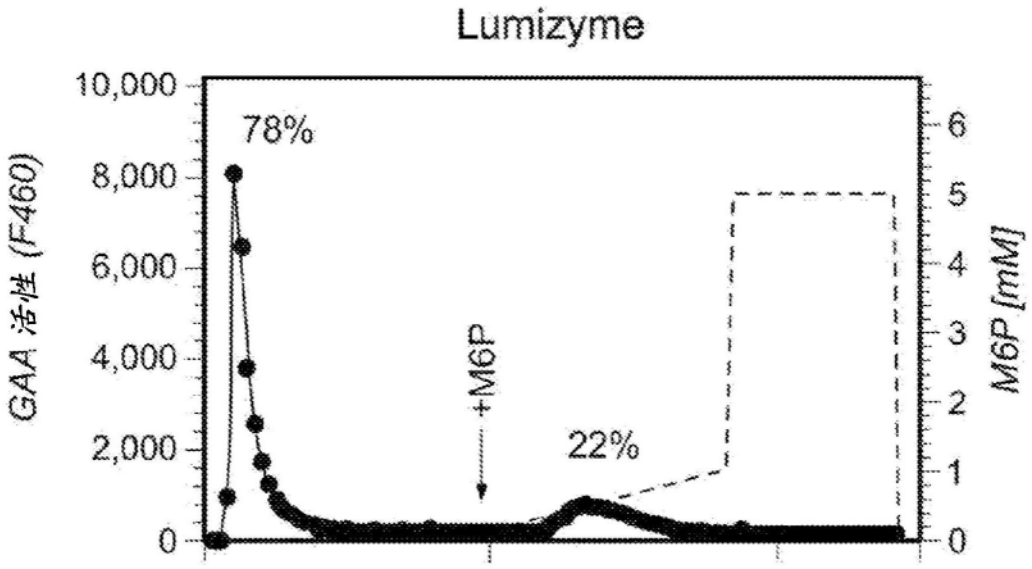

Lumizyme
GAA 活性 (F460)
M6P [mM]
10,000
8,000
6,000
4,000
2,000
0
6
5
4
3
2
1
0
78%
+M6P
22%

图9A

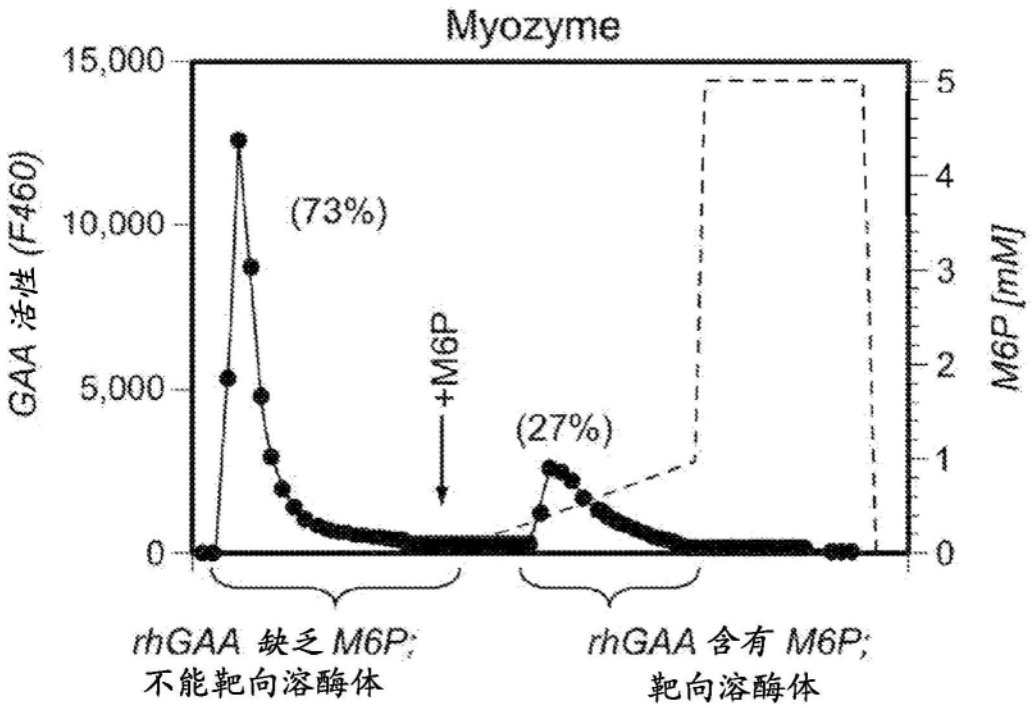

Myozyme
GAA 活性 (F460)
M6P [mM]
15,000
10,000
5,000
0
5
4
3
2
1
0
(73%)
+M6P
(27%)
rhGAA 缺乏 M6P;
不能靶向溶酶体
rhGAA 含有 M6P;
靶向溶酶体

图9B

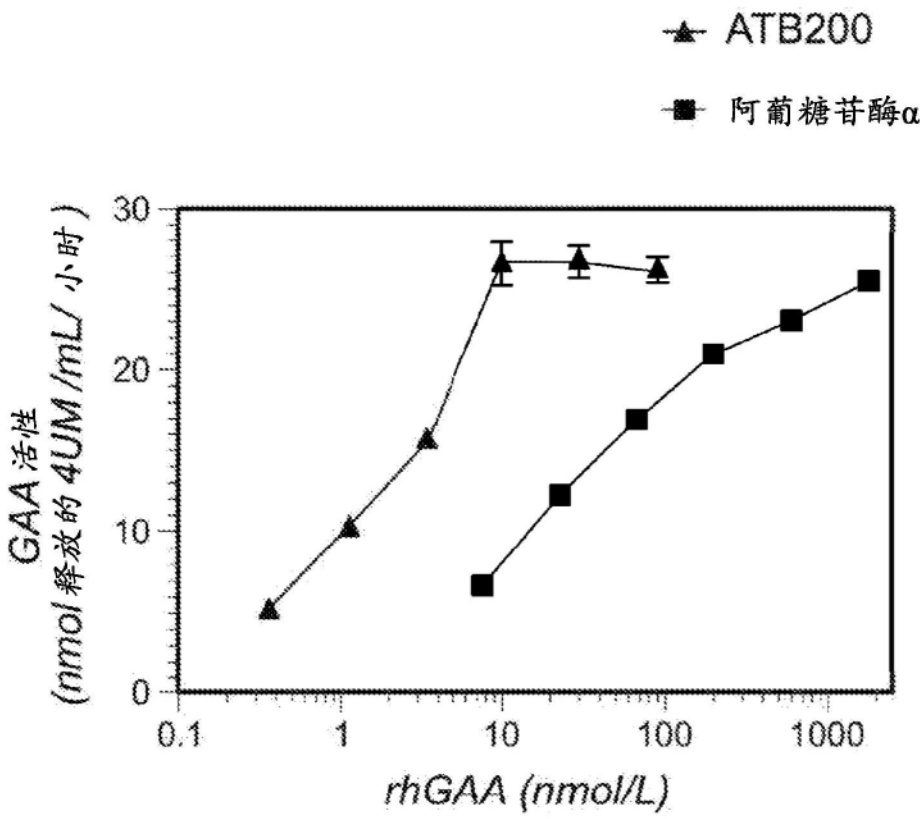


图10A

聚糖	阿葡糖苷酶α (mol 双-聚糖 / mol 蛋白质)	ATB200 (mol 双-聚糖 / mol 蛋白质)
双-M6P	0.1	1.3

图10B

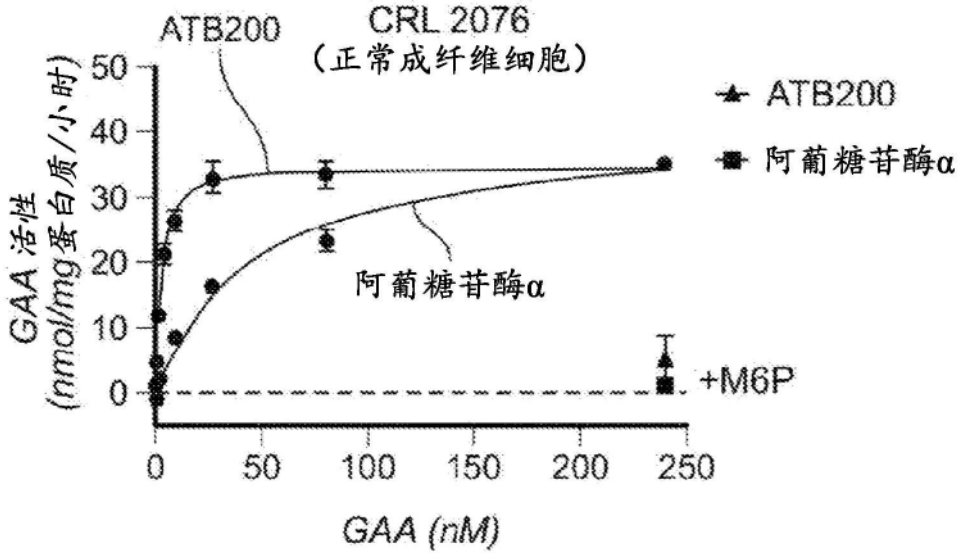

ATB200
CRL 2076
（正常成纤维细胞）
ATB200
阿葡糖苷酶α
阿葡糖苷酶α
+M6P
GAA 活性
(nmol/mg蛋白质/小时)
0
10
20
30
40
50
0
50
100
150
200
250
GAA (nM)

图11A

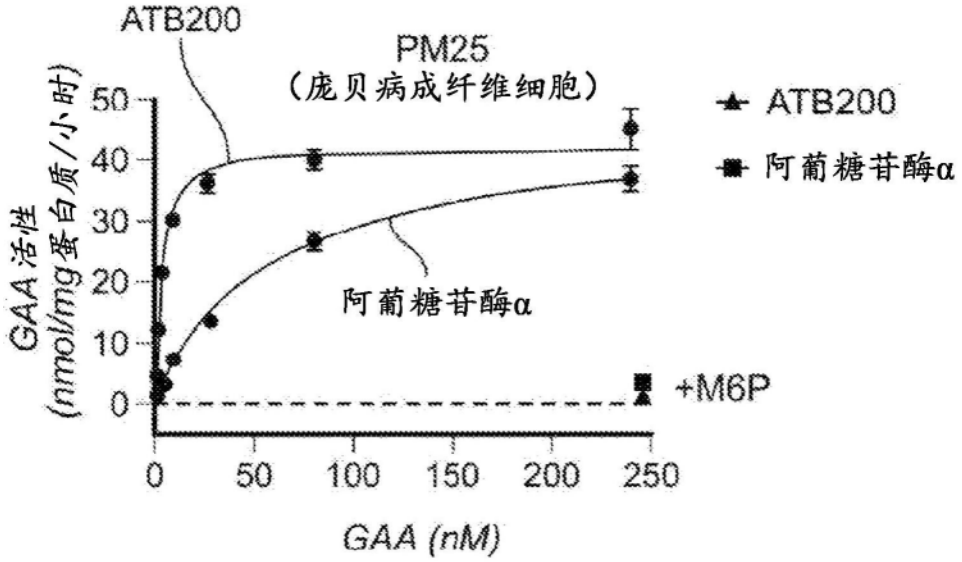

ATB200
PM25
（庞贝病成纤维细胞）
ATB200
阿葡糖苷酶α
阿葡糖苷酶α
+M6P
GAA 活性
(nmol/mg蛋白质/小时)
0
10
20
30
40
50
0
50
100
150
200
250
GAA (nM)

图11B

细胞系	$K_{摄取}$(nM)	
	ATB200	Lumizyme®
正常	2	56
庞贝病	3	57

图11C

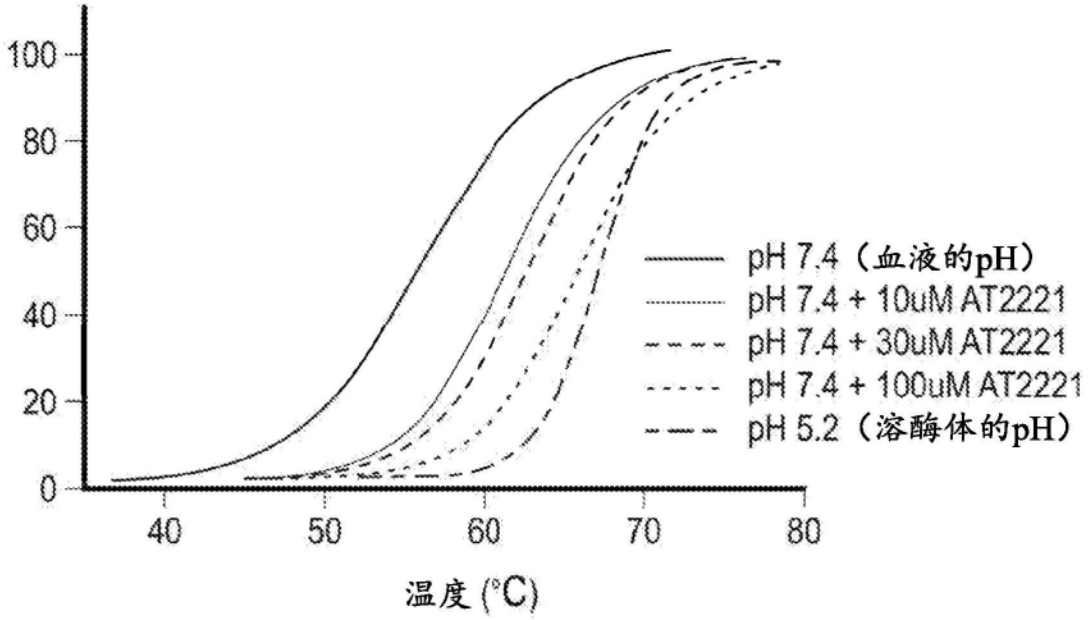


图12

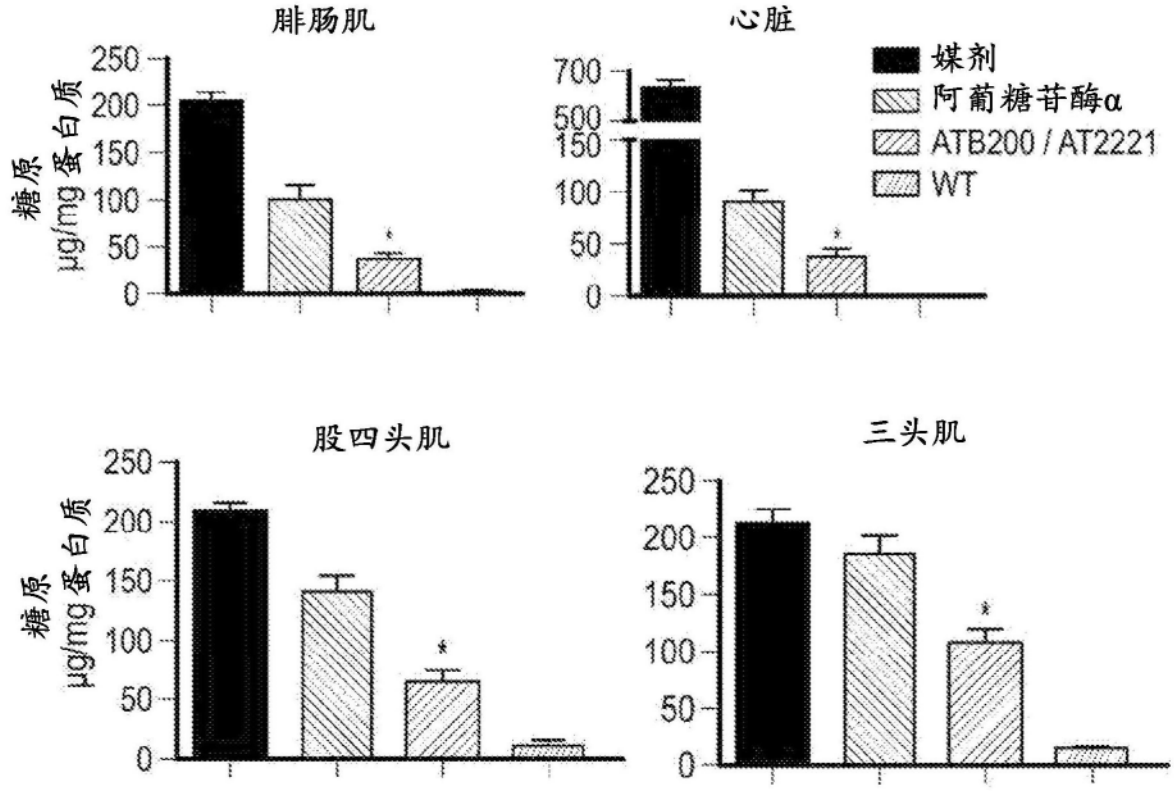

腓肠肌
心脏
股四头肌
三头肌
糖原 μg/mg 蛋白质
250
200
150
100
50
0
700
500
媒剂
阿葡糖苷酶α
ATB200 / AT2221
WT
*

图13

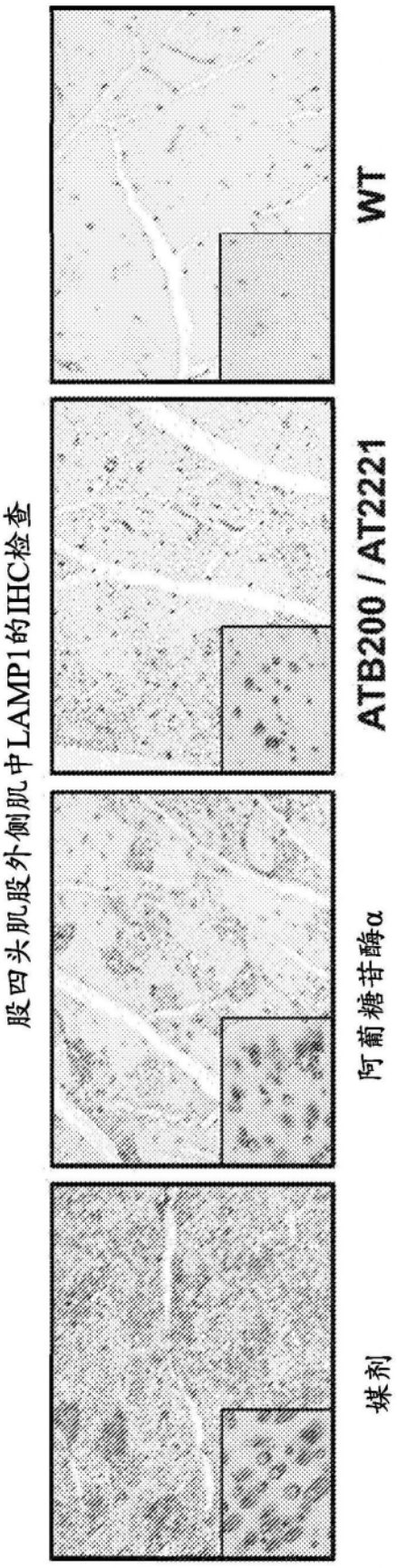


图14

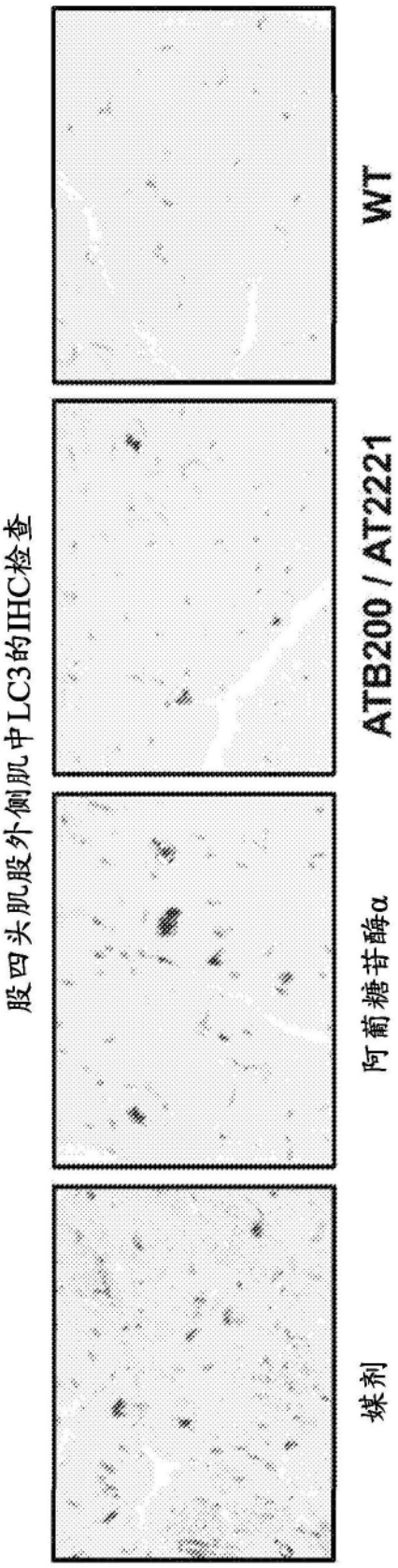


图15A

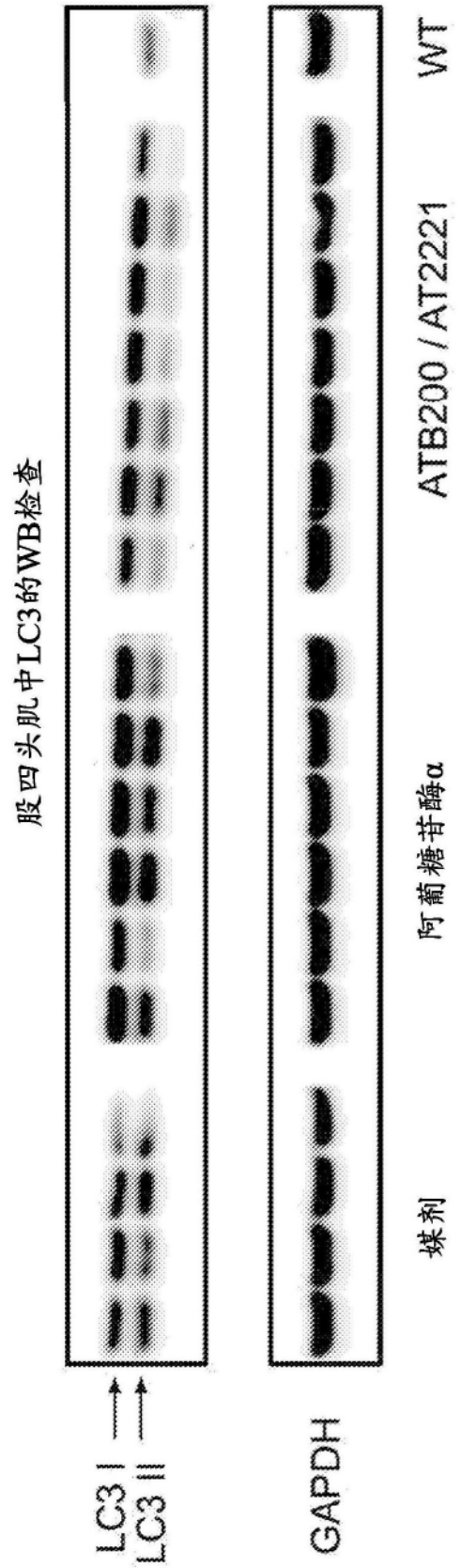


图15B

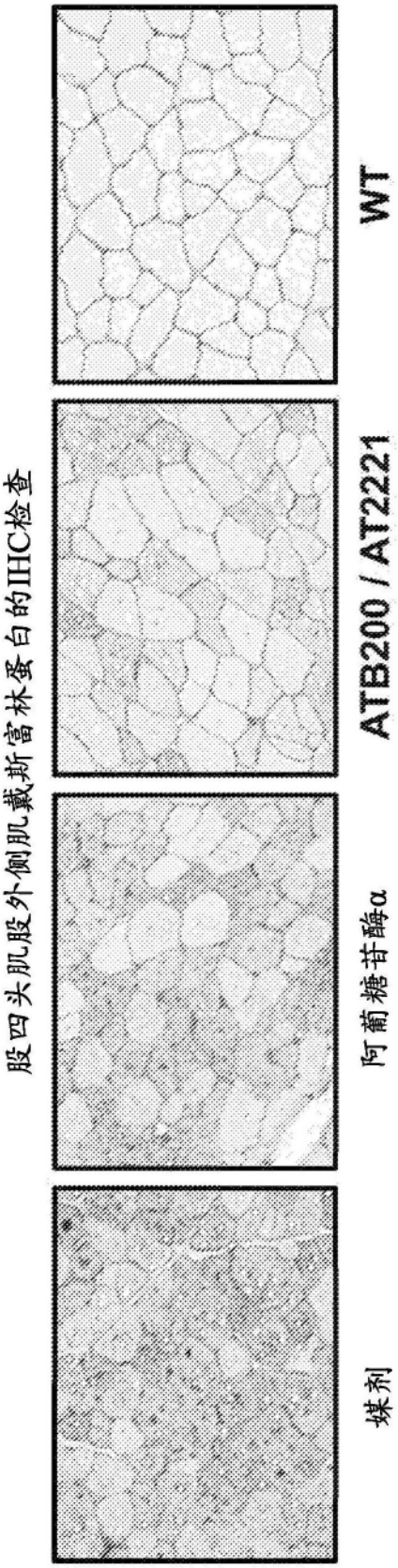


图16

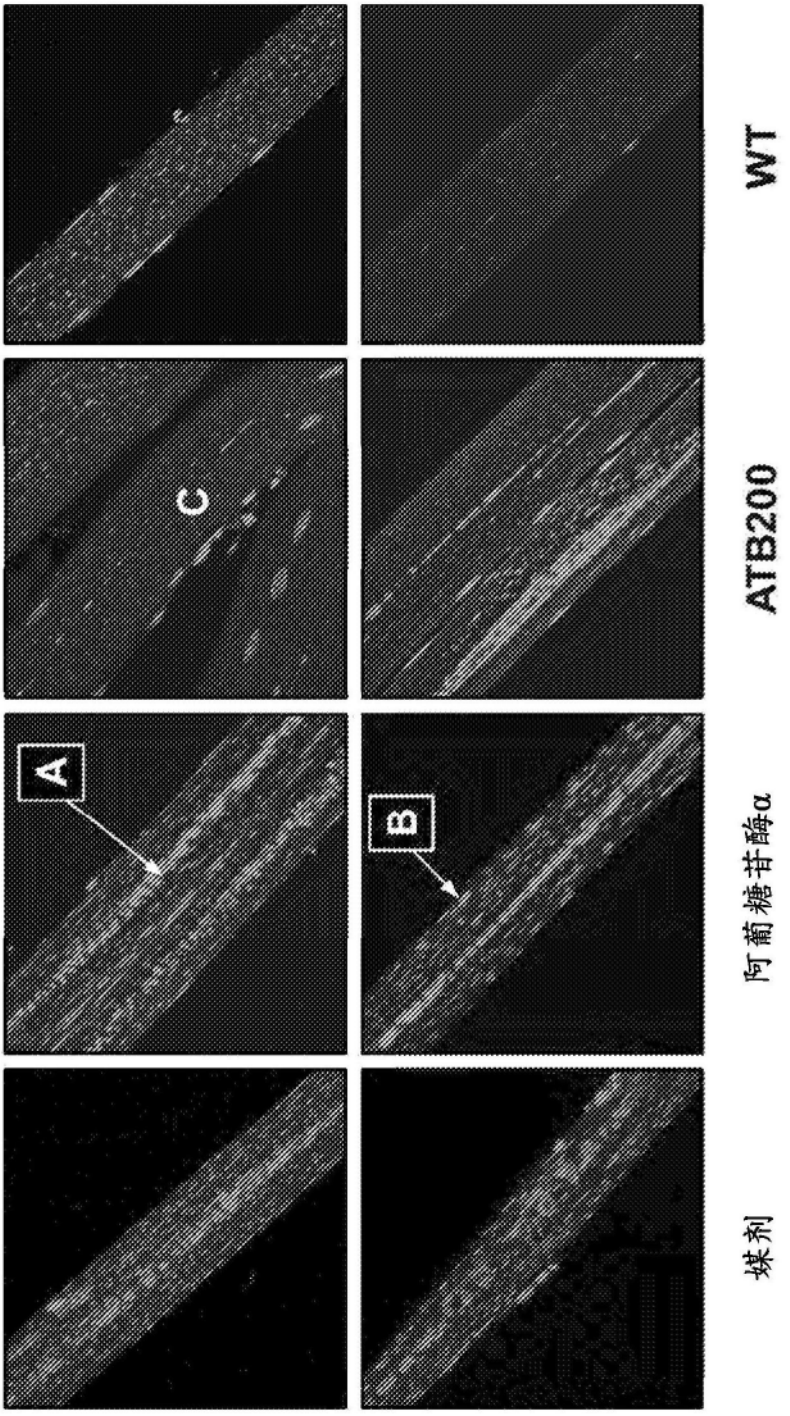


图17

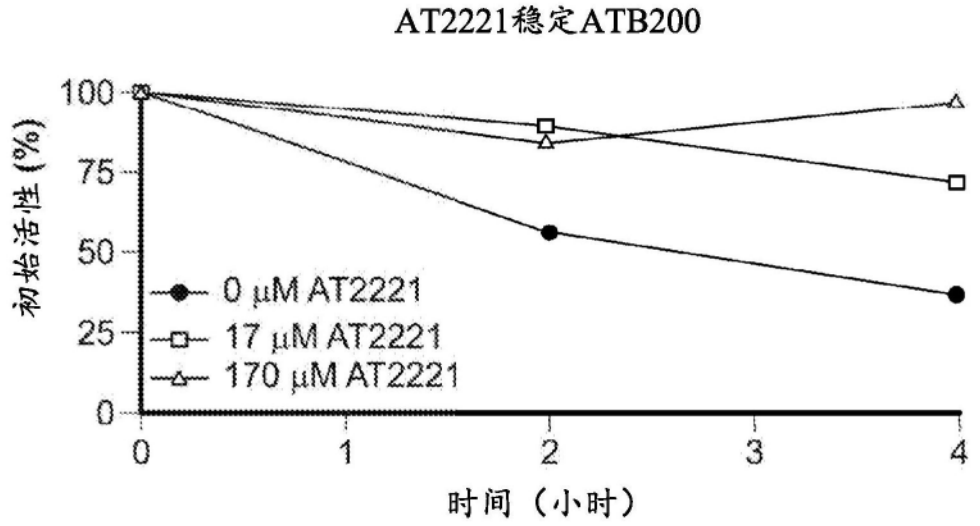
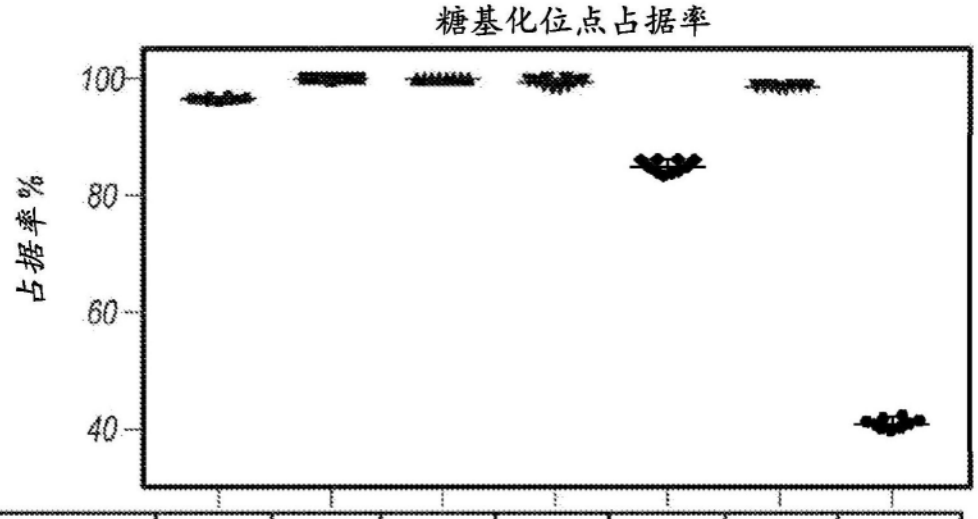


图18



糖基化位点	Asn140	Asn233	Asn390	Asn470	Asn652	Asn882	Asn925
平均占据率	97%	100%	100%	99%	85%	99%	41%
CV	0.2	0.01	0.0	0.22	0.34	0.04	0.26
N=	10						

图19A

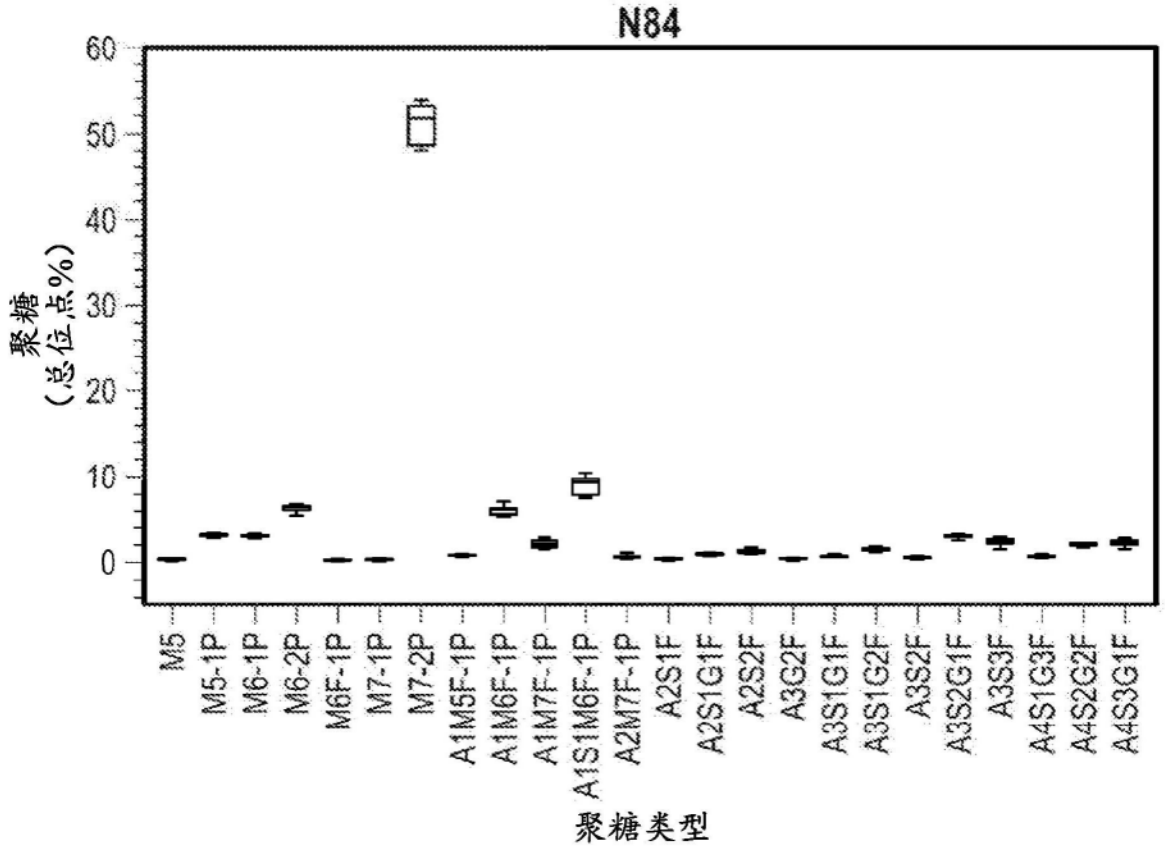

N84
聚糖
(总位点%)
60
50
40
30
20
10
0
M5
M5-1P
M6-1P
M6-2P
M6F-1P
M7-1P
M7-2P
A1M5F-1P
A1M6F-1P
A1M7F-1P
A1S1M6F-1P
A2M7F-1P
A2S1F
A2S1G1F
A2S2F
A3G2F
A3S1G1F
A3S1G2F
A3S2F
A3S2G1F
A3S3F
A4S1G3F
A4S2G2F
A4S3G1F
聚糖类型

图19B

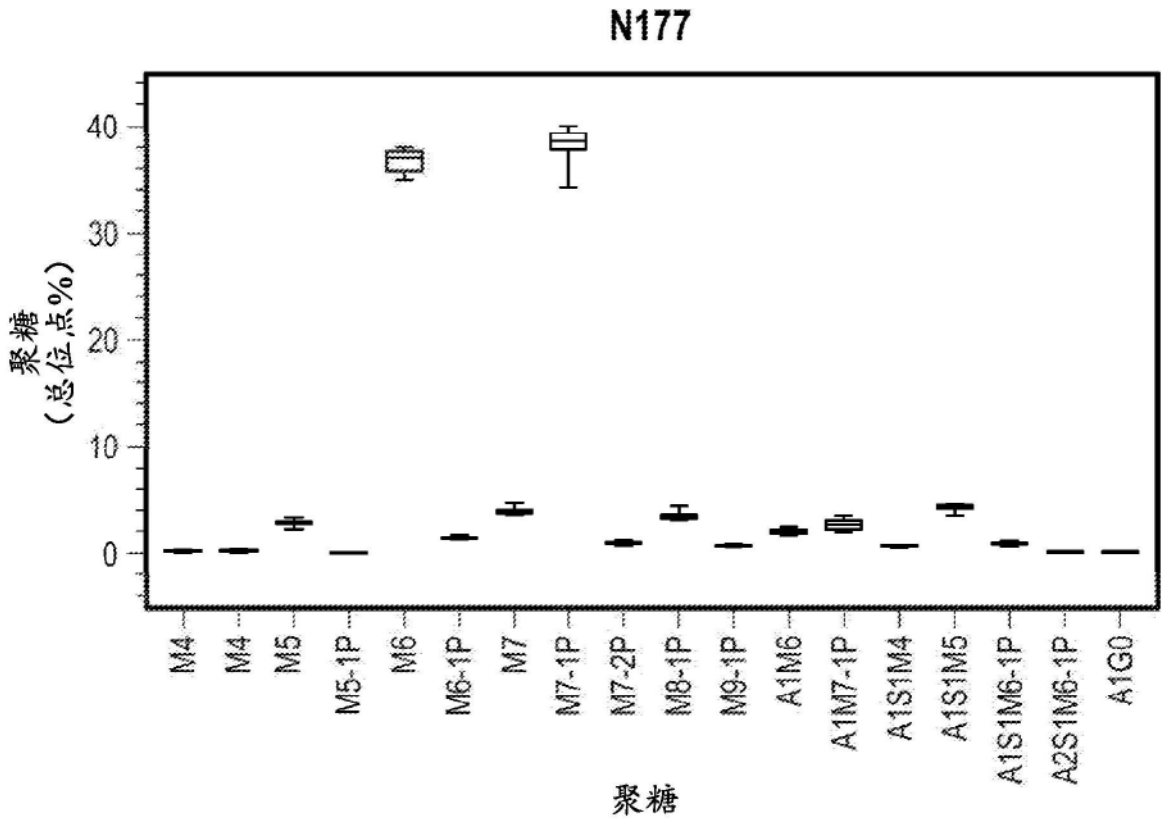

N177
聚糖
(总位点%)
40
30
20
10
0
M4
M4
M5
M5-1P
M6
M6-1P
M7
M7-1P
M7-2P
M8-1P
M9-1P
A1M6
A1M7-1P
A1S1M4
A1S1M5
A1S1M6-1P
A2S1M6-1P
A1G0
聚糖

图19C

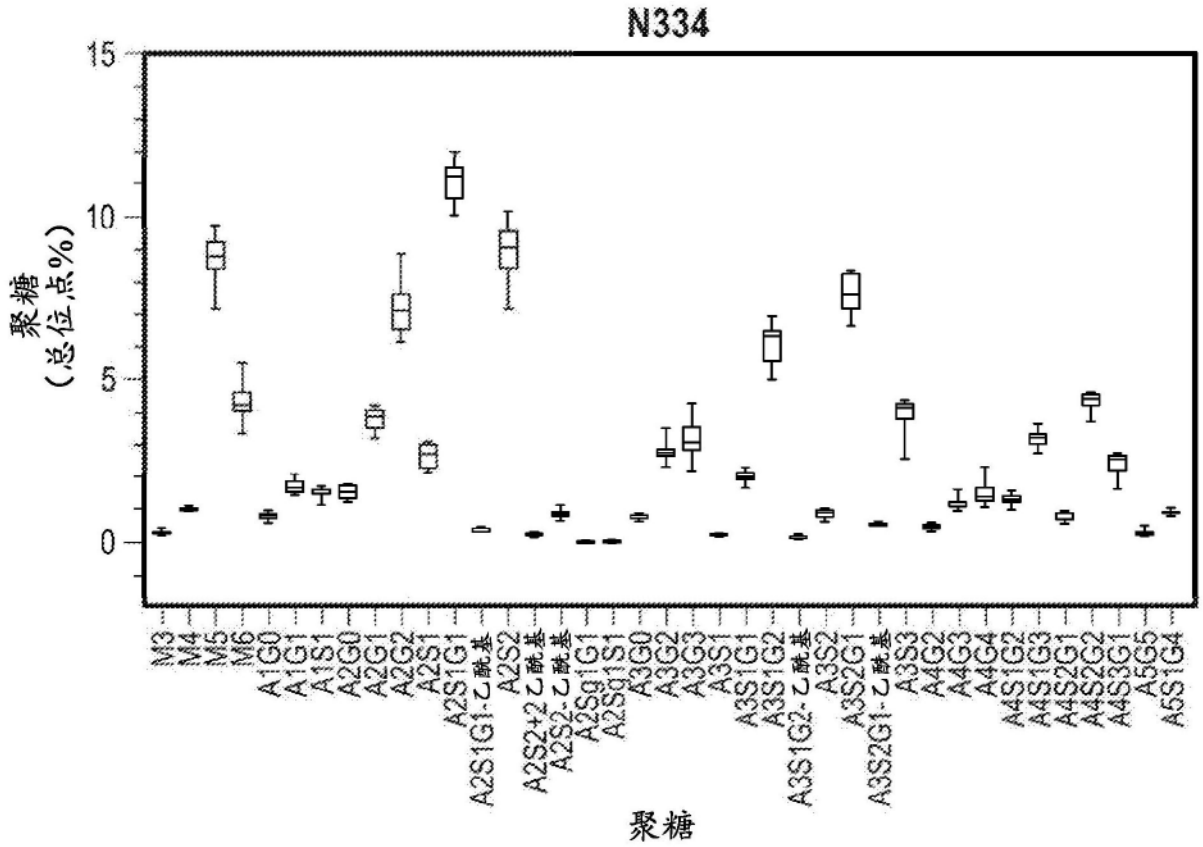

N334
聚糖
(总位点%)
15
10
5
0
M3
M4
M5
M6
A1G0
A1G1
A1S1
A2G0
A2G1
A2G2
A2S1
A2S1G1
A2S1G1-乙酰基
A2S2
A2S2+2乙酰基
A2S2-乙酰基
A2Sg1G1
A2Sg1S1
A3G0
A3G2
A3G3
A3S1
A3S1G1
A3S1G2
A3S1G2-乙酰基
A3S2
A3S2G1
A3S2G1-乙酰基
A3S3
A4G2
A4G3
A4G4
A4S1G2
A4S1G3
A4S2G1
A4S2G2
A4S3G1
A5G5
A5S1G4
聚糖

图19D

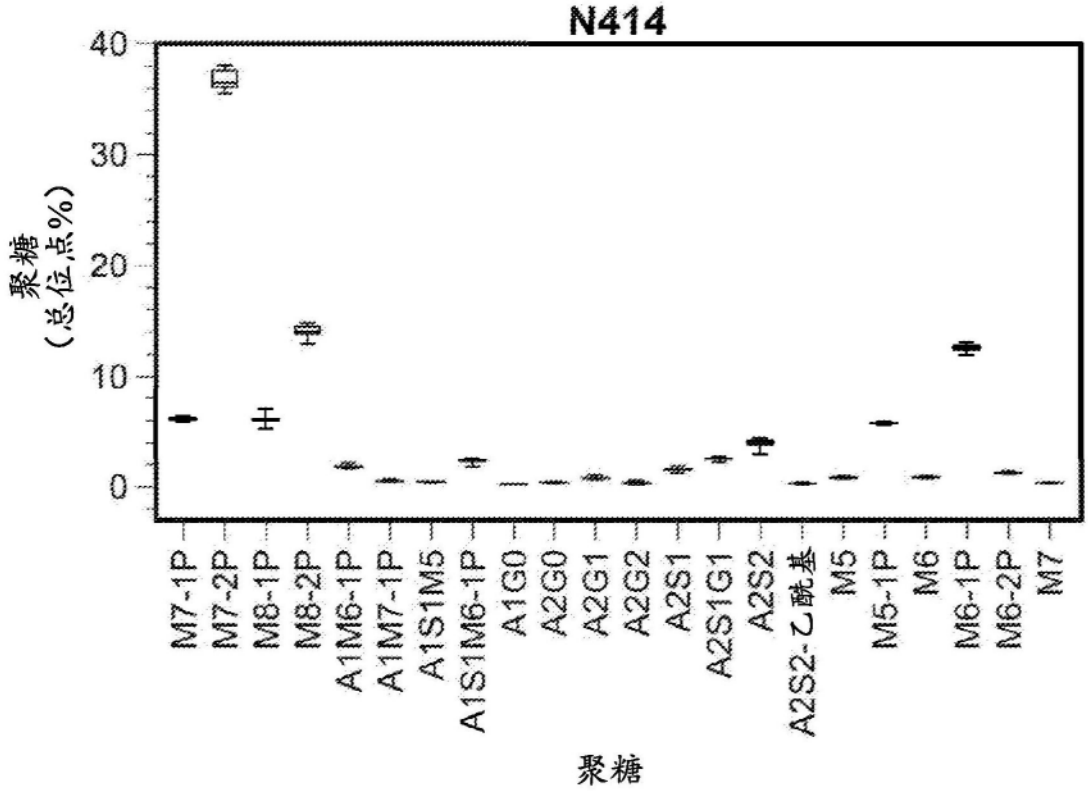

N414
聚糖
(总位点%)
40
30
20
10
0
M7-1P
M7-2P
M8-1P
M8-2P
A1M6-1P
A1M7-1P
A1S1M5
A1S1M6-1P
A1G0
A2G0
A2G1
A2G2
A2S1
A2S1G1
A2S2
A2S2-乙酰基
M5
M5-1P
M6
M6-1P
M6-2P
M7
聚糖

图19E

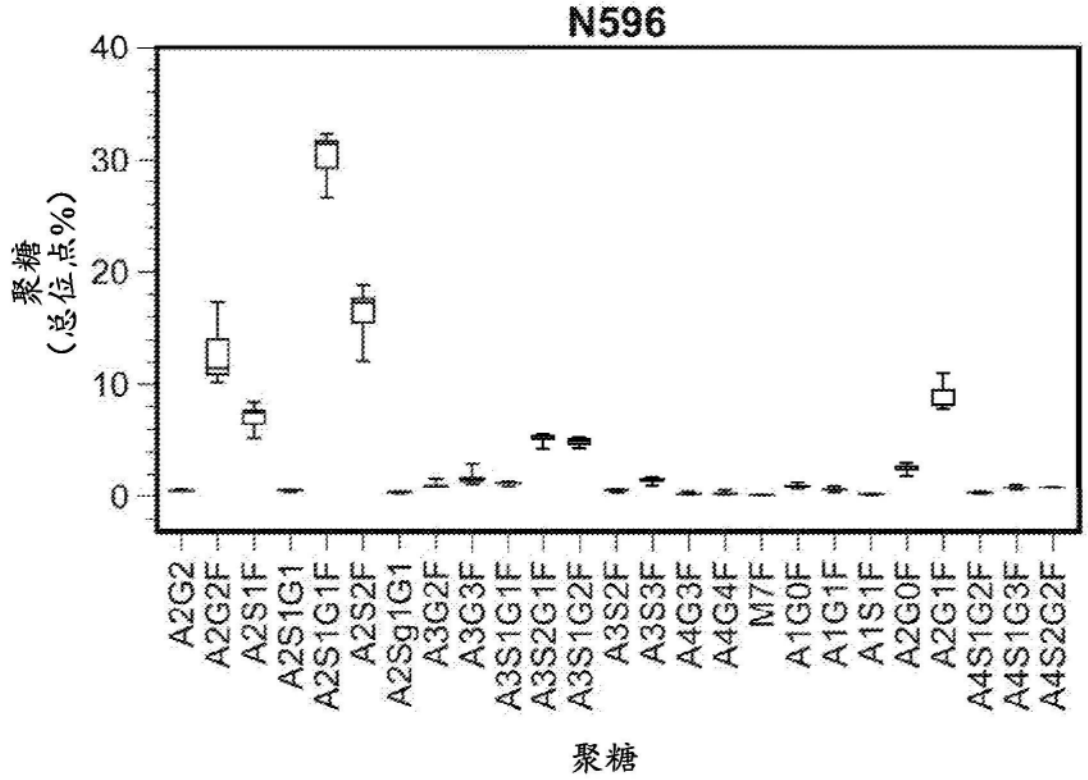

N596
聚糖
(总位点%)
40
30
20
10
0
A2G2
A2G2F
A2S1F
A2S1G1
A2S1G1F
A2S2F
A2Sg1G1
A3G2F
A3G3F
A3S1G1F
A3S2G1F
A3S1G2F
A3S2F
A3S3F
A4G3F
A4G4F
M7F
A1G0F
A1G1F
A1S1F
A2G0F
A2G1F
A4S1G2F
A4S1G3F
A4S2G2F
聚糖

图19F

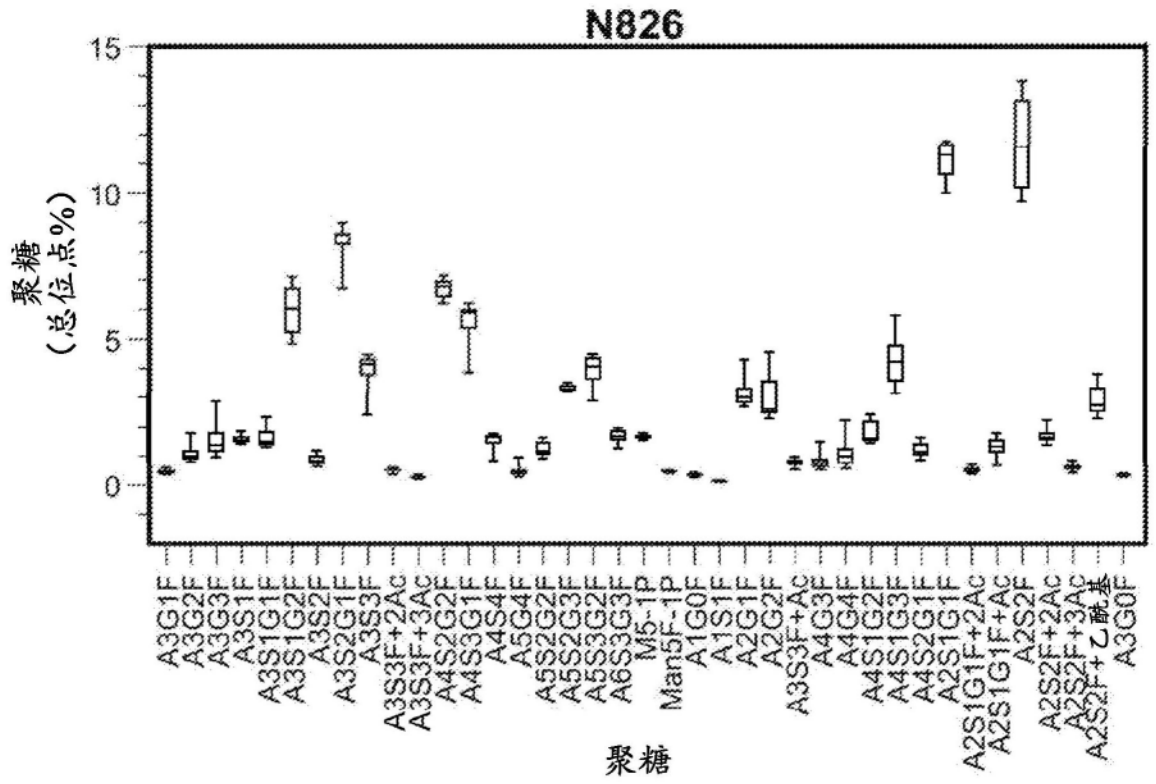

N826
聚糖
(总位点%)
15
10
5
0
A3G1F
A3G2F
A3G3F
A3S1F
A3S1G1F
A3S1G2F
A3S2F
A3S2G1F
A3S3F
A3S3F+2Ac
A3S3F+3Ac
A4S2G2F
A4S3G1F
A4S4F
A5G4F
A5S2G2F
A5S2G3F
A5S3G2F
A6S3G3F
M5-1P
Man5F-1P
A1G0F
A1S1F
A2G1F
A2G2F
A3S3F+Ac
A4G3F
A4G4F
A4S1G2F
A4S1G3F
A4S2G1F
A2S1G1F
A2S1G1F+2Ac
A2S1G1F+Ac
A2S2F
A2S2F+2Ac
A2S2F+3Ac
A2S2F+乙酰基
A3G0F
聚糖

图19G

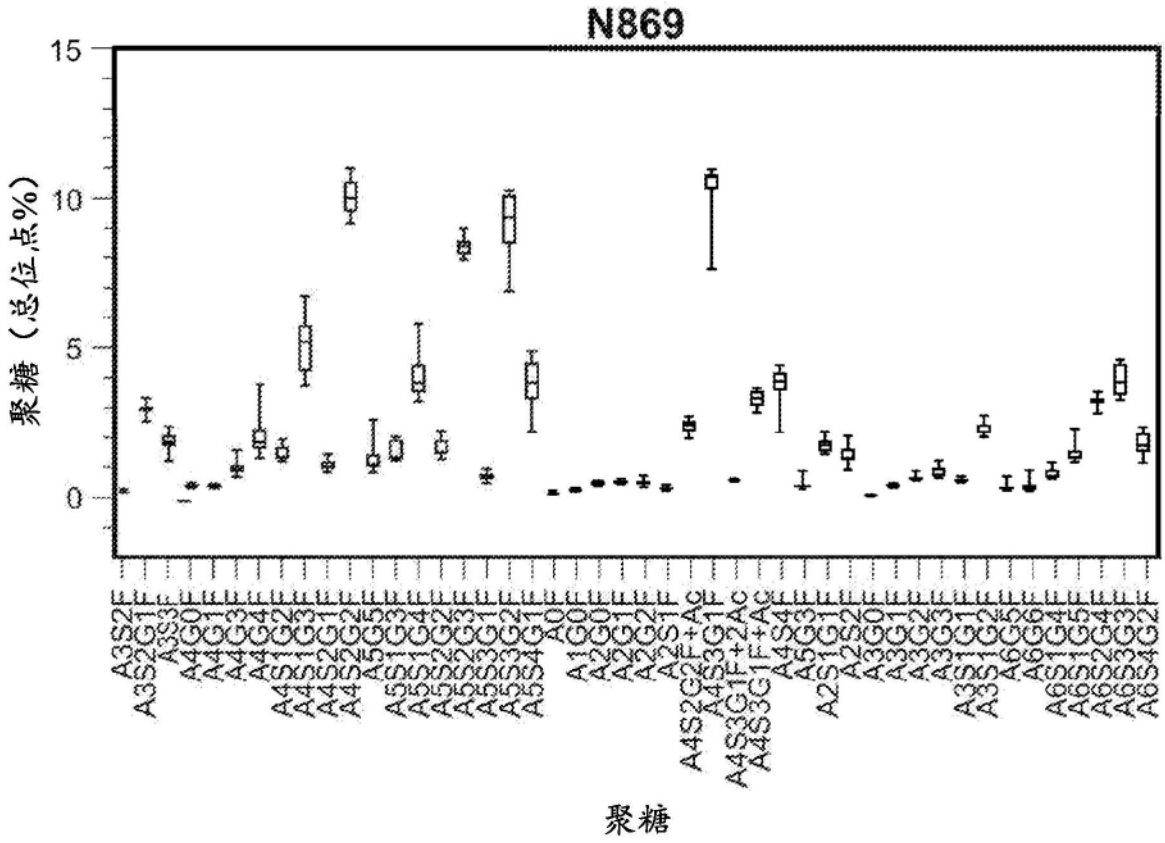


图19H

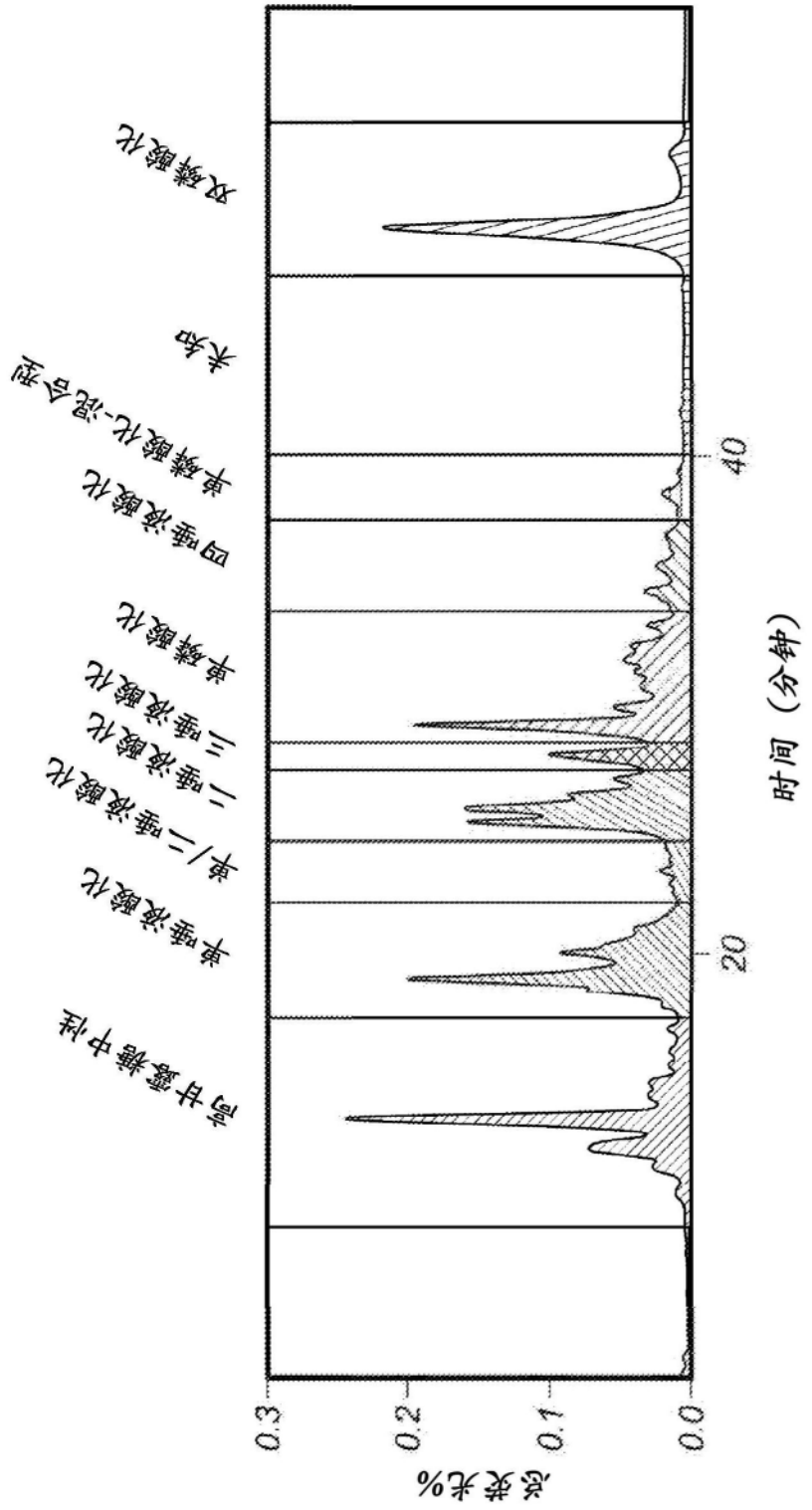

高甘露糖中性
单唾液酸化
单/二唾液酸化
二唾液酸化
三唾液酸化
单磷酸化
四唾液酸化
单磷酸化-混合型
未知
双磷酸化
总荧光%
0.3
0.2
0.1
0.0
20
40
时间（分钟）

图20A

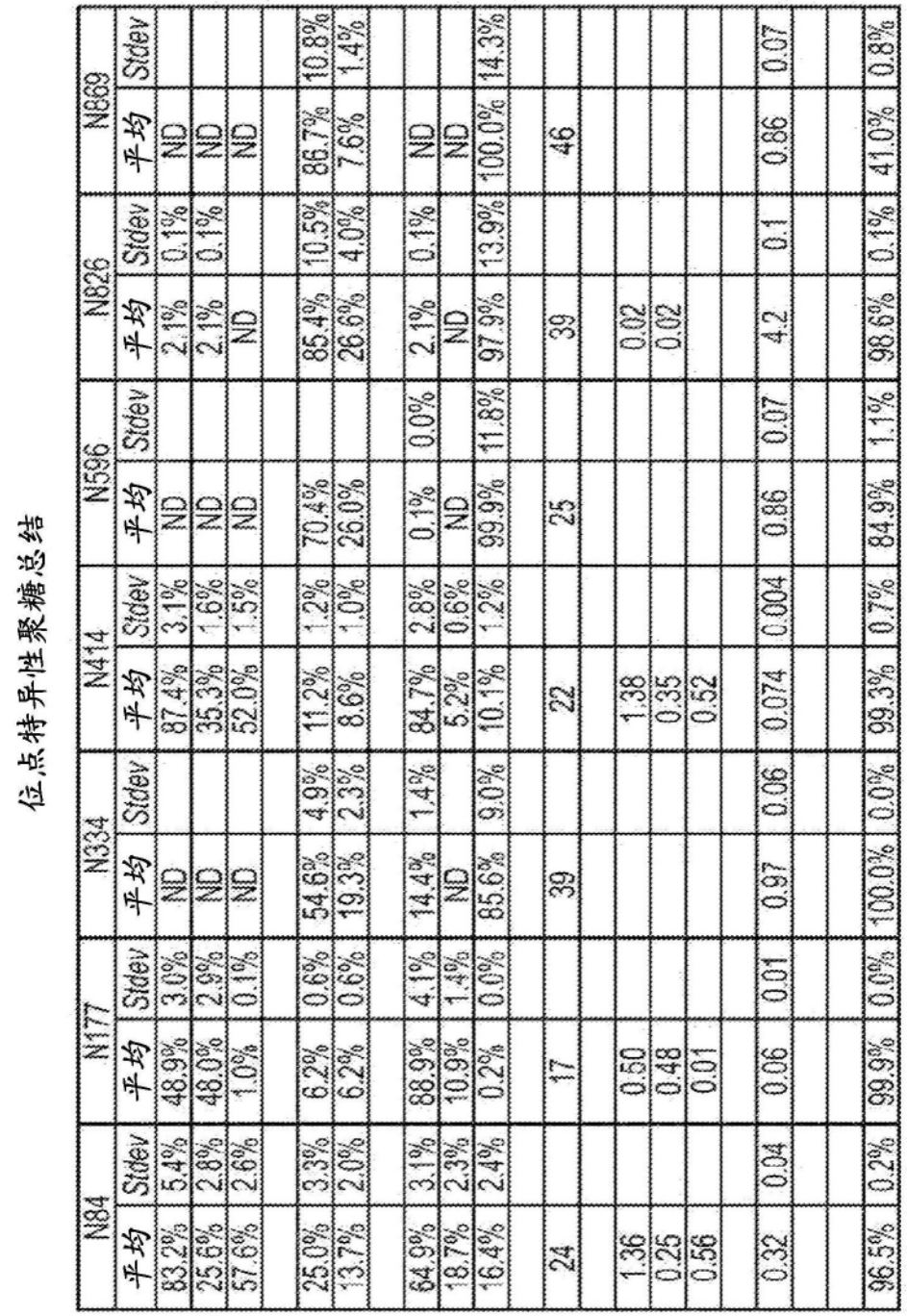

位点特异性聚糖总结
N84
N177
N334
N414
N596
N826
N869
平均
Stdev
磷酸化聚糖
单磷酸化
双磷酸化
唾液酸化聚糖
完全唾液酸化
高甘露糖
混合型
复合型
聚糖数量
M6P (mol/mol 位点)
单聚糖 (mol/mol 位点)
双聚糖 (mol/mol 位点)
唾液酸 (mol/mol 位点)
位点占据率
ND=未检测到

图20B

PROPEL (ATB200-03): 研究设计
PROPEL
3期双盲随机研究，旨在评估ATB200/AT2221与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比，
对患有迟发性庞贝病的成人受试者的功效和安全性
入组
n=123
经历过ERT的和
ERT初治的
62个WW临床站点
2:1随机化
52周初步治疗期
（双盲）
AT-GAA (n=85)
20 mg/kg ATB200 IV
+ 260 mg AT2221 qow
阿葡糖苷酶α (n=38)
20 mg/kg 阿葡糖苷酶α IV
+ 安慰剂 qow
开放标签扩展
n=117
ClinicalTrials.gov标识符：NCT04138277
ClinicalTrials.gov标识符：NCT03729362
主要入组标准：
筛选时确诊为LOPD时年龄≥18岁，体重≥40 kg
就ERT状态而言，被分类为以下之一：
经历过ERT，定义为目前接受标准护理ERT（阿葡糖苷酶α）24个月
ERT初治，定义为从未接受过ERT
筛选时6MWD≥75米且≤健康成人预测值的90%
筛选时坐姿FVC≥健康成人预测值的30%
2:1随机化，具有ERT状态分层因素，基线6MWD

图21

基线特征			PROPEL	
基线6MWD和FVC具有群体代表性，并且在两个治疗组中总体相似				
	AT-GAA n=85		阿葡糖苷酶α n=37	
6MWD, m				
平均值(SD)	357.9 (111.8)		351 (121.3)	
中位数(Min, Max)	359.5 (79.0, 575.0)		365.5 (112.5, 623.0)	
	经历过ERT	ERT初治	经历过ERT	ERT初治
	n=65	n=20	n=30	n=7
平均值(SD)	346.9 (110.2)	393.6 (112.4)	334.6 (114.0)	420.9 (135.7)
中位数(Min, Max)	352.5 (79.0, 557.5)	375.2 (154.0, 575.0)	343.3 (112.5, 532.3)	385.5 (201.0, 623.0)
	AT-GAA n=85		阿葡糖苷酶α n=37	
预测的FVC %，坐姿				
平均值(SD)	70.7 (19.6)		65.7 (21.5)	
中位数(Min, Max)	70.0 (30.5, 132.5)		71.0 (31.5, 122.0)	
	经历过ERT	ERT初治	经历过ERT	ERT初治
	n=65	n=20	n=30	n=7
平均值(SD)	67.9 (19.1)	80.2 (18.7)	67.5 (21.0)	79.1 (22.6)
中位数(Min, Max)	68 (30.5, 132.5)	82.3 (48.0, 111.0)	69.0 (31.5, 122.0)	93.5 (46.5, 98.0)

6MWD=6分钟步行距离；FVC=用力肺活量

结果排除了一名临床上不可信的患者，该患者在研究开始前刚使用了研究用合成代谢类固醇激素（选择性雄激素受体调节剂）。

图22

6MWD 和 FVC 结果：总体群体（n=122） PROPEL

与阿葡糖苷酶α相比，AT-GAA的6MWD显示出更大的改善，但并未表现出统计学优势；
与阿葡糖苷酶α相比，AT-GAA的FVC显示出临床显著的改善

6MWD（m）

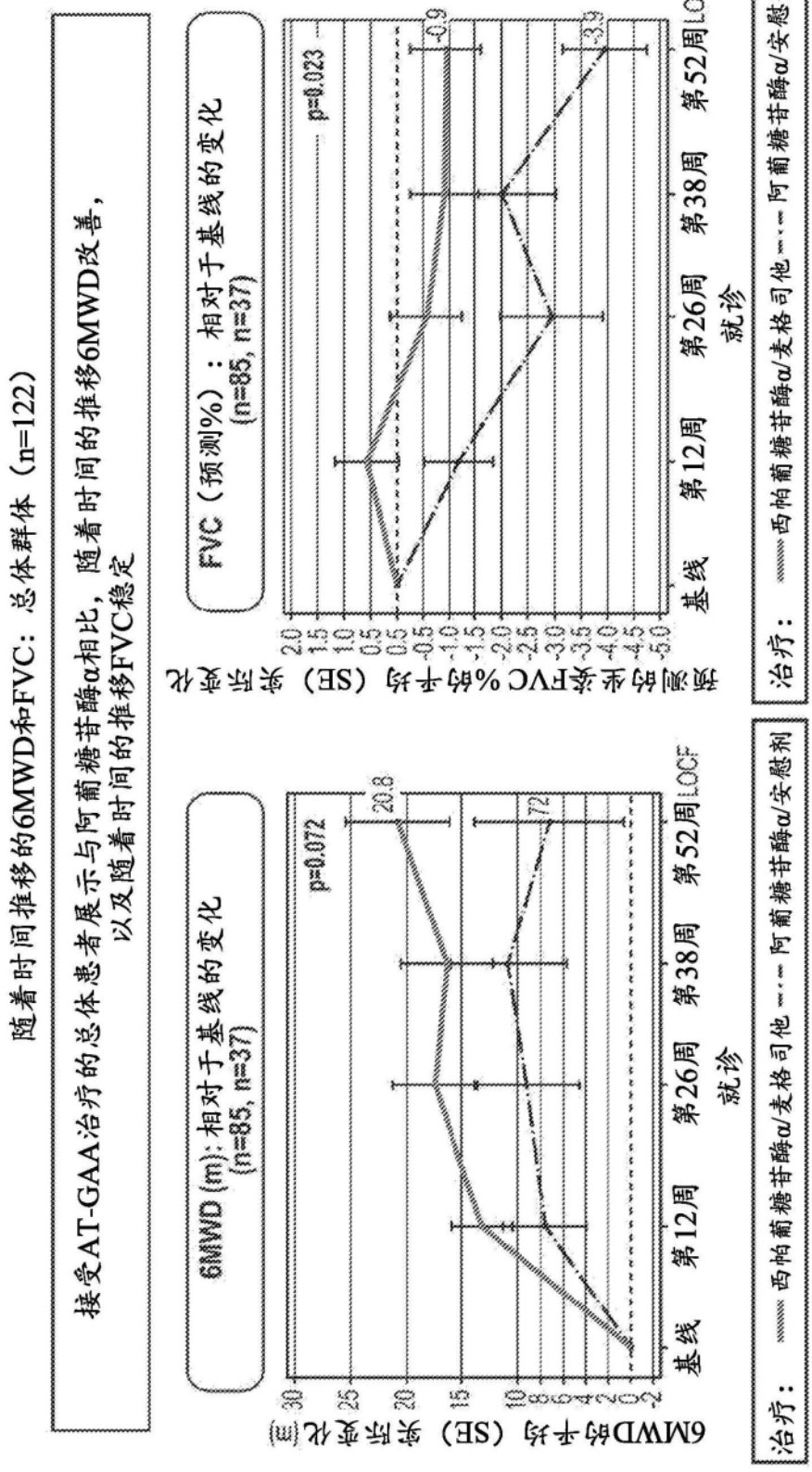
治疗	基线	第52周的CFB	差异	P值
AT-GAA (n=85)	357.9 (111.8)	+20.8 (4.6)	+13.6 (8.3)	p=0.072
阿葡糖苷酶α（n=37）	351.0 (121.3)	+7.2 (6.6)		

FVC（预测%）

治疗	基线	第52周的CFB	差异	P值
AT-GAA (n=85)	70.7 (19.6)	-0.9 (0.7)	+3.0 (1.2)	p=0.023
阿葡糖苷酶α（n=37）	69.7 (21.5)	-4.0 (0.8)		

注：基线是平均值（STDEV）；CFBL是平均LOCF（SE）；P值是标称2侧；FVC数据呈正态分布，p值来自ANCOVA。结果排除了一名临床上不可信的患者，该患者在研究开始前刚使用了研究用合成代谢类固醇激素（选择性雄激素受体调节剂）。6MWD数据不呈正态分布，6MWD p值用于非参数ANCOVA；6MWD参数MMRM p值为p = 0.097。

图23A



6MWD = 6分钟步行距离；ANCOVA-协方差分析；CFBL = 相对于基线的变化；ERT = 酶替代疗法；FVC = 用力肺活量；LOCF = 末次观察推进法；MMRM = 重复测量的混合效应模型 SD = 标准偏差；SE = 标准误差。基线为平均值（SD）CFBL为平均值（SE）；*P*值是标称2侧；FVC数据呈正态分布，*P*值来自ANCOVA。6MWD数据不呈正态分布，6MWD *P*值用于非参数ANCOVA；6MWD参数MMRM *P* = 0.097。结果排除了一名临床上不可信的患者，该患者在研究开始前刚使用了研究用合成代谢类固醇激素（选择性雄激素受体调节剂）。

图23B

6MWD和FVC结果：经历过ERT的群体（n = 95） PROPEL

在经历过ERT的群体中，存在AT-GAA相比于阿葡糖苷酶α在6MWD和FVC方面的临床显著改善

6MWD (m)

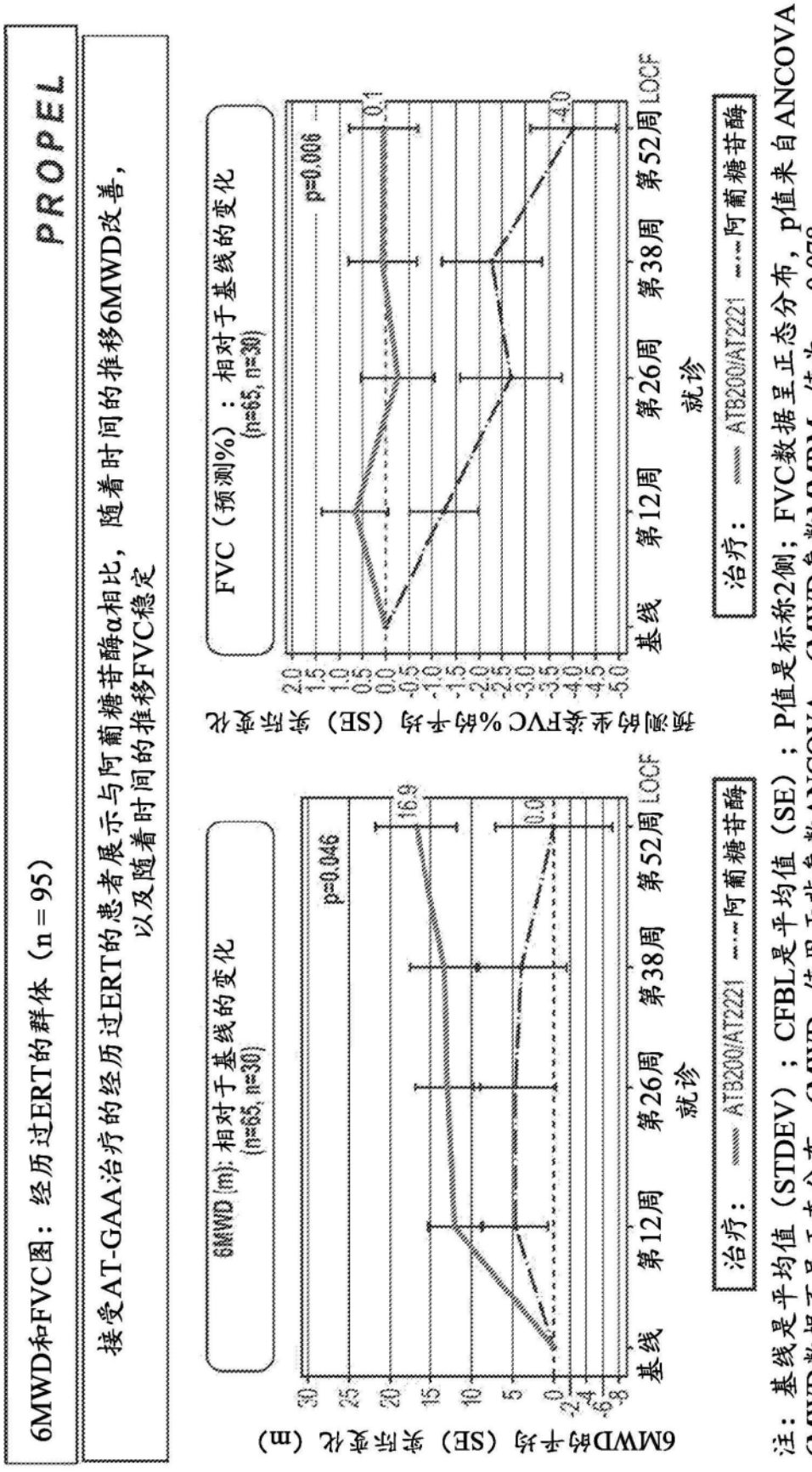
治疗	基线	第52周的CFB	差异	P值
AT-GAA (n=65)	346.9 (110.2)	+16.9 (5.0)	+16.9 (8.8)	p=0.046
阿葡糖苷酶α（n = 30）	334.6 (114.0)	0.0 (7.2)		

FVC（预测%）

治疗	基线	第52周的CFB	差异	P值
AT-GAA (n=65)	67.9 (19.1)	+0.1 (0.7)	+4.1 (1.2)	p=0.006
阿葡糖苷酶α（n = 30）	67.5 (21.0)	-4.0 (0.9)		

注：基线是平均值（STDEV）；CFBL是平均LOCF（SE）；P值是标称2侧；FVC数据呈正态分布，p值来自ANCOVA。6MWD数据不呈正态分布，6MWD p值用于非参数ANCOVA；6MWD参数MMRM p值为p = 0.078。

图24



注：基线是平均值（STDEV）；CFBL是平均值（SE）；P值是标称2侧；FVC数据呈正态分布，p值来自ANCOVA
6MWD数据不呈正态分布，6MWD p值用于非参数ANCOVA；6MWD参数MMRM p值为p = 0.078

图25

6MWD和FVC结果：ERT初治群体（n = 27）

PROPEL

在较小的ERT初治群体中，变异性较大，6MWD和FVC在数值上均支持阿葡糖苷酶α

6MWD (m)

治疗	基线	第52周的CFB	差异	P值
AT-GAA (n=20)	393.6 (112.4)	+33.4 (10.9)	-4.9 (19.7)	p=0.60
阿葡糖苷酶α（n = 7）	420.9 (135.7)	+38.3 (11.1)		

FVC（预测%）

治疗	基线	第52周的CFB	差异	P值
AT-GAA (n=20)	80.2 (18.7)	-4.1 (1.5)	-0.5 (2.7)	p=0.57
阿葡糖苷酶α（n = 7）	79.1 (22.6)	-3.6 (1.8)		

注：基线是平均值（STDEV）；CFBL是平均LOCF（SE）；P值是标称2侧；FVC数据呈正态分布，p值来自ANCOVA。结果排除了一名临床上不可信的患者，该患者在研究开始前刚使用了研究用合成代谢类固醇激素（选择性雄激素受体调节剂）。6MWD数据不呈正态分布，p值用于Wilcoxon检验；6MWD参数MMRM p值为p = 0.75。

图26A

6MWD＝6分钟步行距离；ANCOVA-协方差分析；CFBL＝相对于基线的变化；ERT＝酶替代疗法；FVC＝用力肺活量；LOCF＝末次观察推进法；MMRM＝重复测量的混合效应模型；SD＝标准偏差；SE＝标准误差。基线为平均值（SD）；CFBL为平均值（SE）；*P*值是标称2侧；FVC数据呈正态分布，*P*值来自ANCOVA。6MWD数据不呈正态分布，6MWD *P*值用于Wilcoxon检验；6MWD参数MMRM *P* = 0.75。结果排除了一名临床上不可信的患者，该患者在研究开始前刚使用了研究用合成代谢类固醇激素（选择性雄激素受体调节剂）。

图26B

基线特征：关键次要终点和生物标志物

参数，平均值（SD）	AT-GAA		阿葡糖苷酶α	
	总体 n=85	经历过ERT n=65	总体 n=37	经历过ERT n=30
MMT 下肢得分	28.0 (5.8)[a]	26.4 (5.1)[b]	27.7 (6.2)[c]	26.1 (5.8)[d]
MMT 下肢得分	66.9 (12.3)[a]	64.4 (1.4)[b]	68.0 (13.1)	68.9 (12.3)
MMT 下肢得分	22.3 (8.3)	22.0 (7.9)	21.1 (6.1)	20.4 (5.4)
MMT 下肢得分	14.5 (5.2)[e]	15.6 (4.1)[f]	14.5 (4.7)[g]	15.5 (4.4)[h]

GSGC = 步态、楼梯、高尔斯、椅子。
结果排除了1名临床上不可信的患者，该患者在研究开始前刚使用了研究用合成代谢类固醇激素（选择性雄激素受体调节剂）。

[a]n=84; [b]n=64; [c]n=34; [d]n=27; [e]n=74; [f]n=55; [g]n=32; [h]n=25.

图27

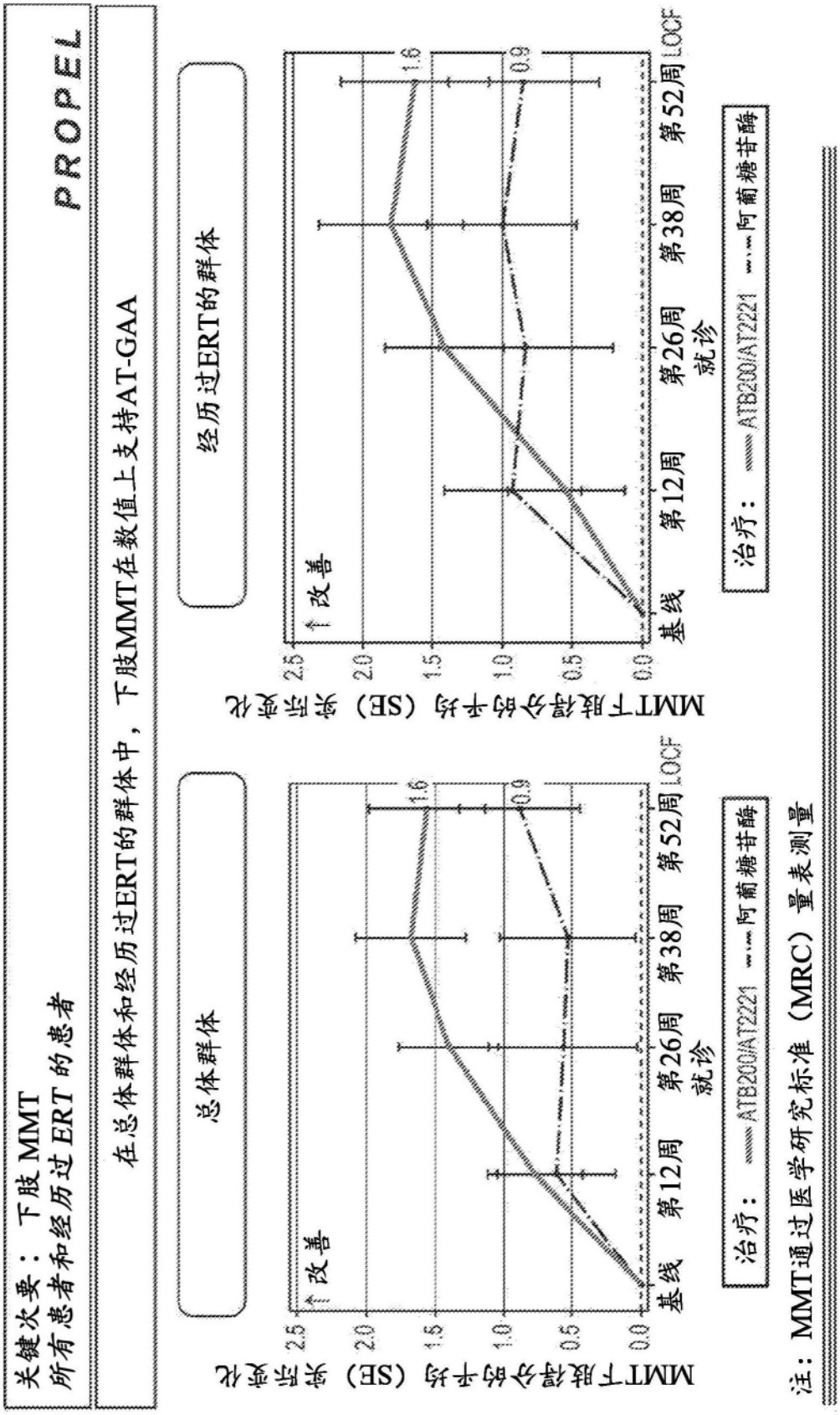

关键次要：下肢 MMT
所有患者和经历过 ERT 的患者
PROPEL
在总体群体和经历过ERT的群体中，下肢MMT在数值上支持AT-GAA
总体群体
经历过ERT的群体
MMT下肢得分的平均（SE）变化
改善
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
1.6
0.9
基线
第12周
第26周
就诊
第38周
第52周 LOCF
治疗：
ATB200/AT2221
阿葡糖苷酶
注：MMT通过医学研究标准（MRC）量表测量

图28

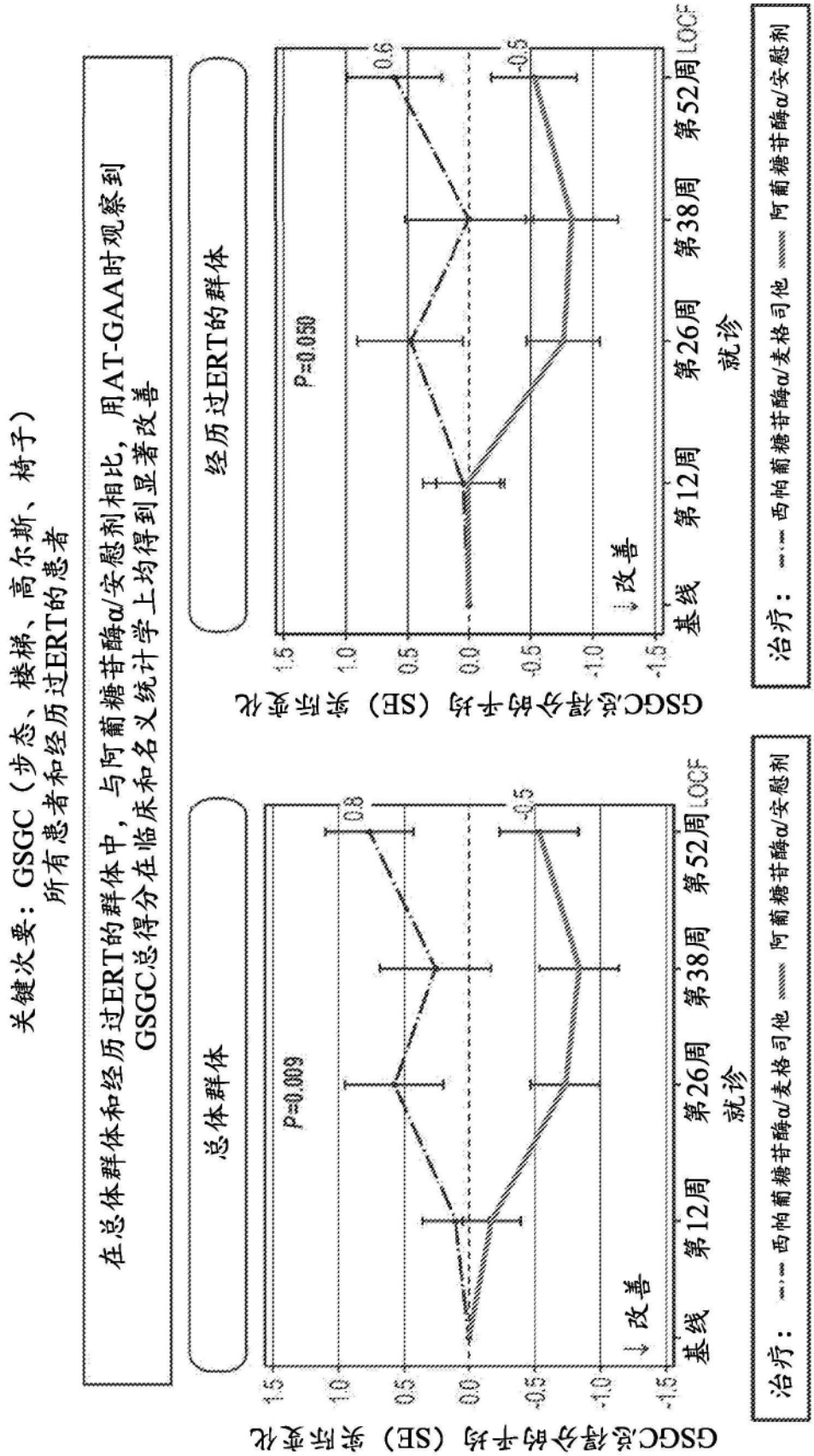

关键次要：GSGC（步态、楼梯、高尔斯、椅子）
所有患者和经历过ERT的患者
在总体群体和经历过ERT的群体中，与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比，用AT-GAA时观察到
GSGC总得分在临床和名义统计学上均得到显著改善
总体群体
经历过ERT的群体
P=0.009
P=0.050
GSGC总得分的平均（SE）变化
基线
第12周
第26周
第38周
第52周
LOCF
就诊
改善
治疗：
西帕葡糖苷酶α/麦格司他
阿葡糖苷酶α/安慰剂
ERT＝酶替代疗法；LOCF＝末次观察推进法；SE，标准误差。
GSGC总得分是4项测试的加和，范围从最低4分（正常表现）到最高27分（最差得分）。

图29

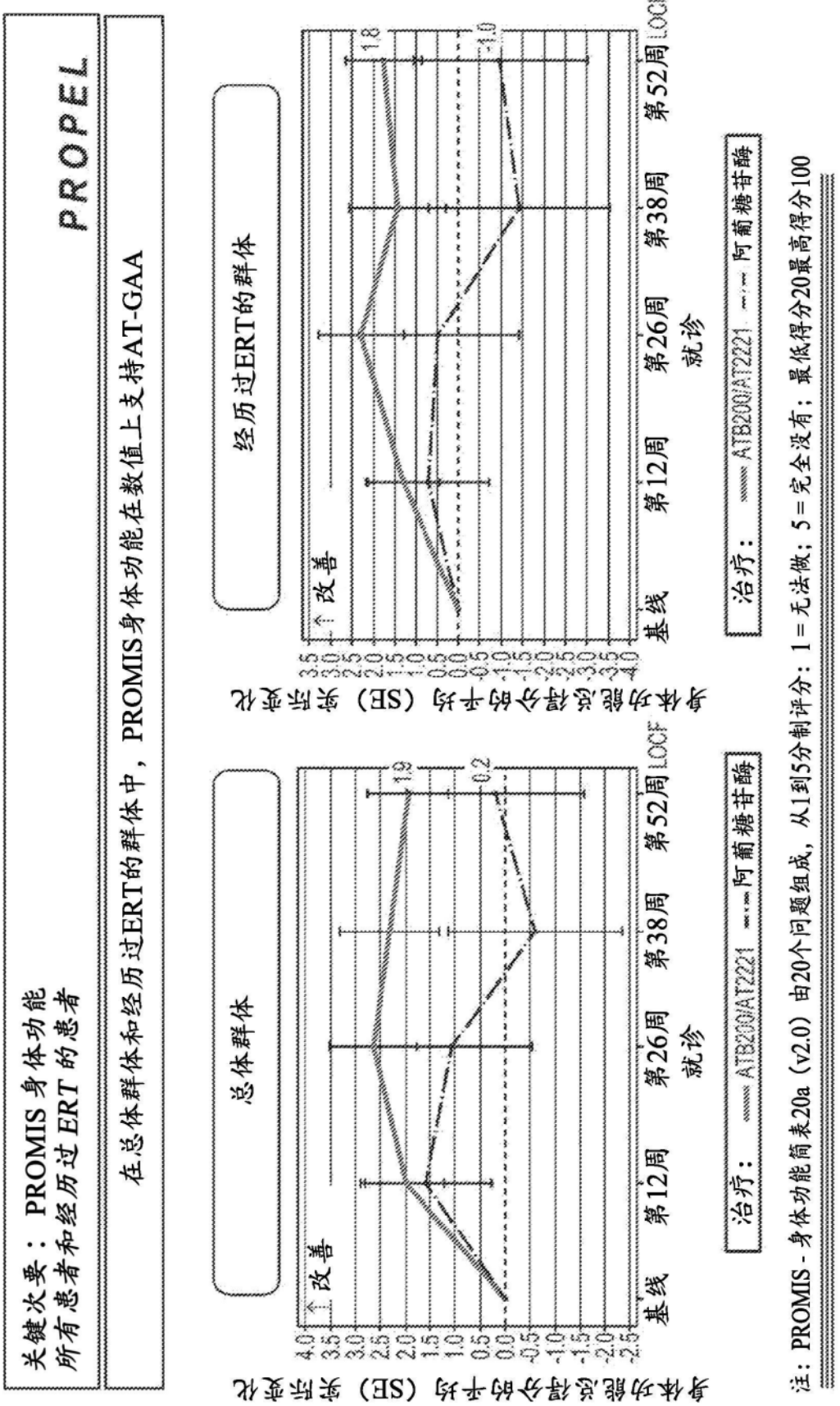

关键次要：PROMIS身体功能
所有患者和经历过ERT的患者
PROPEL
在总体群体和经历过ERT的群体中，PROMIS身体功能在数值上支持AT-GAA
总体群体
经历过ERT的群体
身体功能得分的平均（SE）矫正
改善
基线
第12周
第26周
第38周
第52周
LOCF
就诊
治疗：
ATB200/AT2221
阿葡糖苷酶
注：PROMIS-身体功能简表20a（v2.0）由20个问题组成，从1到5分制评分：1=无法做；5=完全没有；最低得分20最高得分100

图30

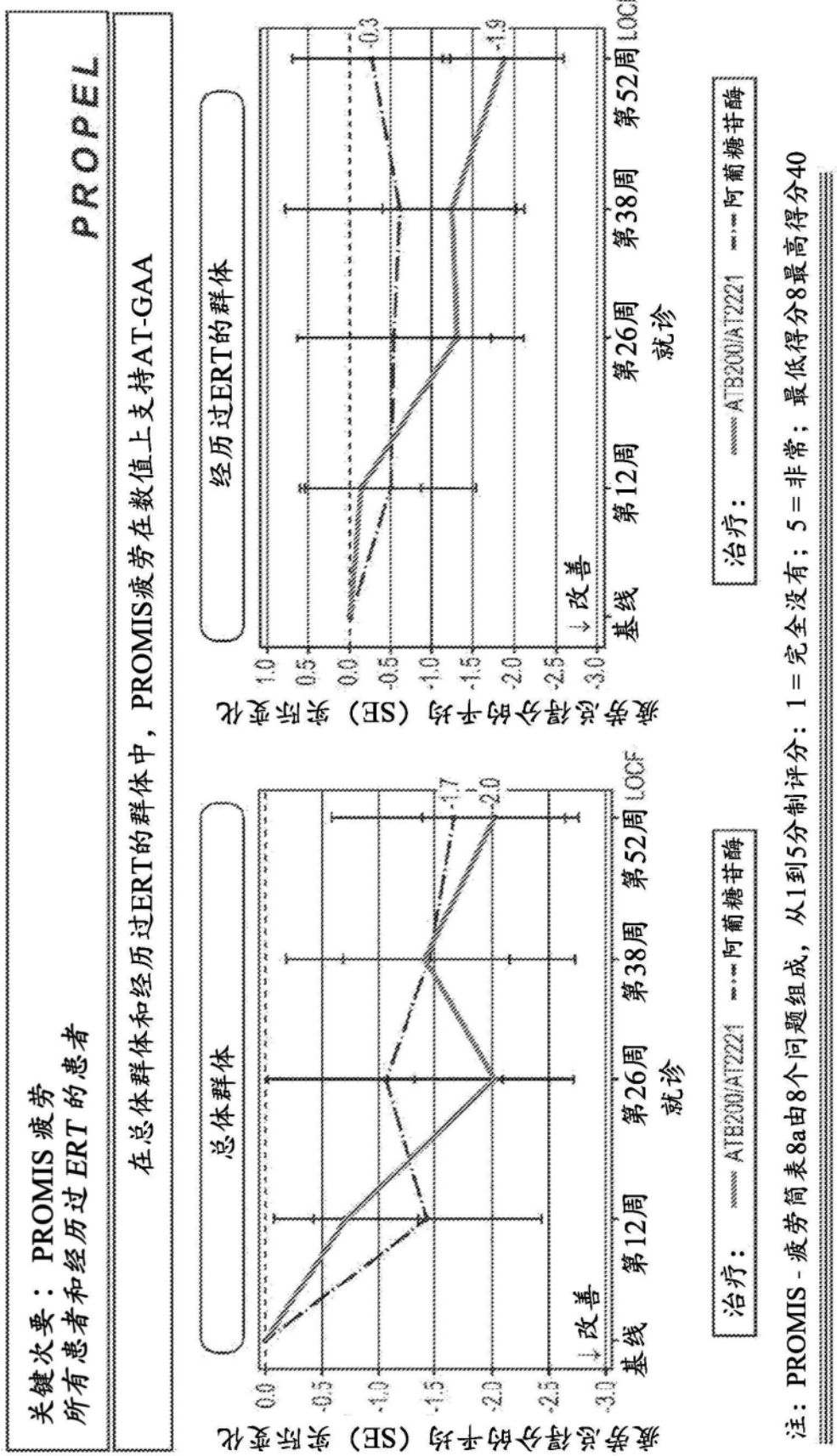

关键次要： PROMIS 疲劳
所有患者和经历过 ERT 的患者
PROPEL
在总体群体和经历过ERT的群体中，PROMIS疲劳在数值上支持AT-GAA
总体群体
经历过ERT的群体
疲劳评分的平均（SE）变化
0.0
-0.5
-1.0
-1.5
-2.0
-2.5
-3.0
1.0
0.5
0.0
-0.5
-1.0
-1.5
-2.0
-2.5
-3.0
↓改善
基线
第12周
第26周
第38周
第52周 LOCF
就诊
-1.7
-2.0
-0.3
-1.9
治疗：
ATB200/AT2221
阿葡糖苷酶
注：PROMIS - 疲劳简表8a由8个问题组成，从1到5分制评分：1 = 完全没有；5 = 非常；最低得分8最高得分40

图31

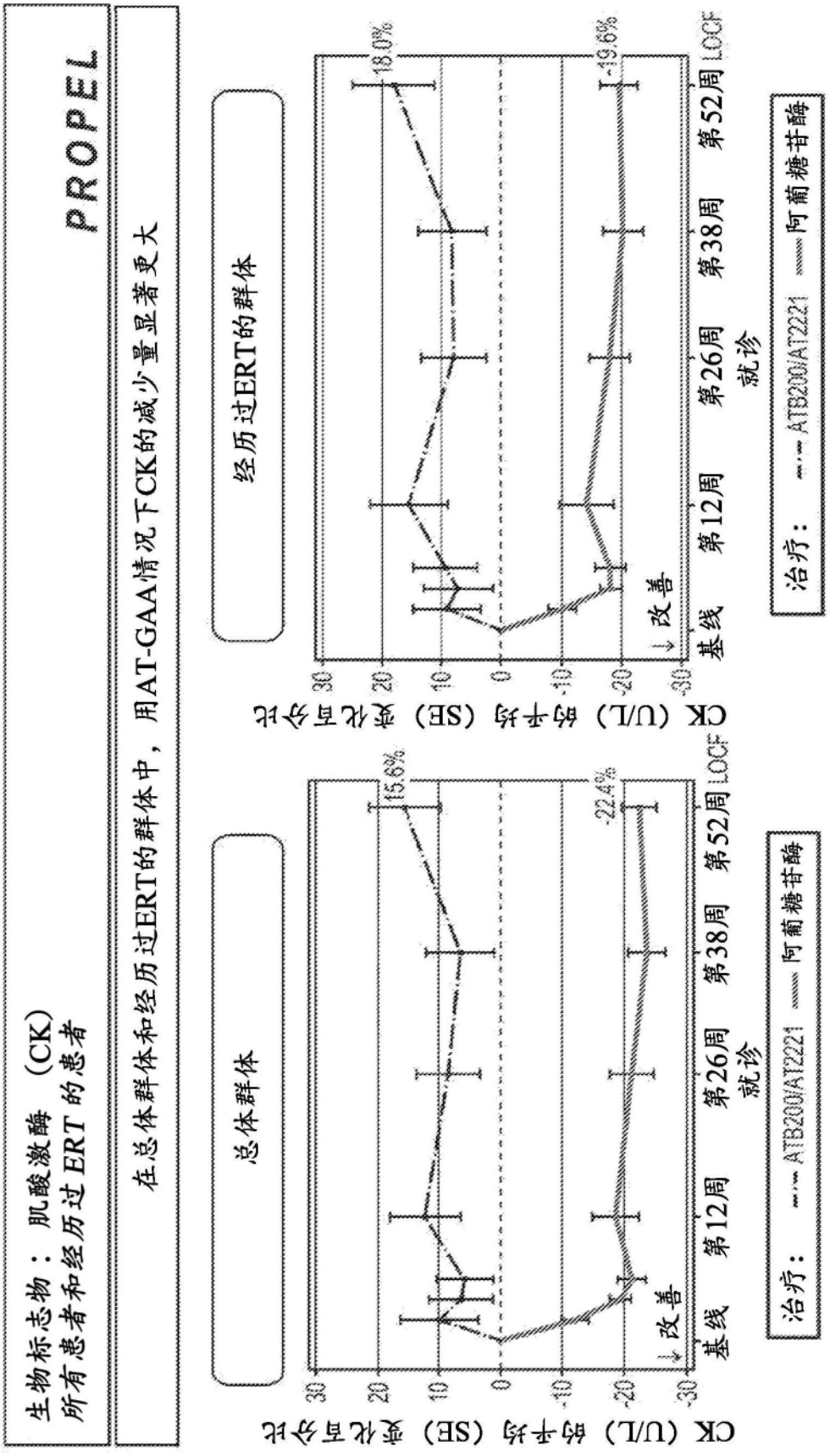

生物标志物：肌酸激酶（CK）
所有患者和经历过ERT的患者
PROPEL
在总体群体和经历过ERT的群体中，用AT-GAA情况下CK的减少量显著更大
总体群体
经历过ERT的群体
CK（U/L）的平均（SE）变化百分比
基线
第12周
第26周
就诊
第38周
第52周
LOCF
改善
15.6%
22.4%
18.0%
19.6%
治疗：
ATB200/AT2221
阿葡糖苷酶

图32

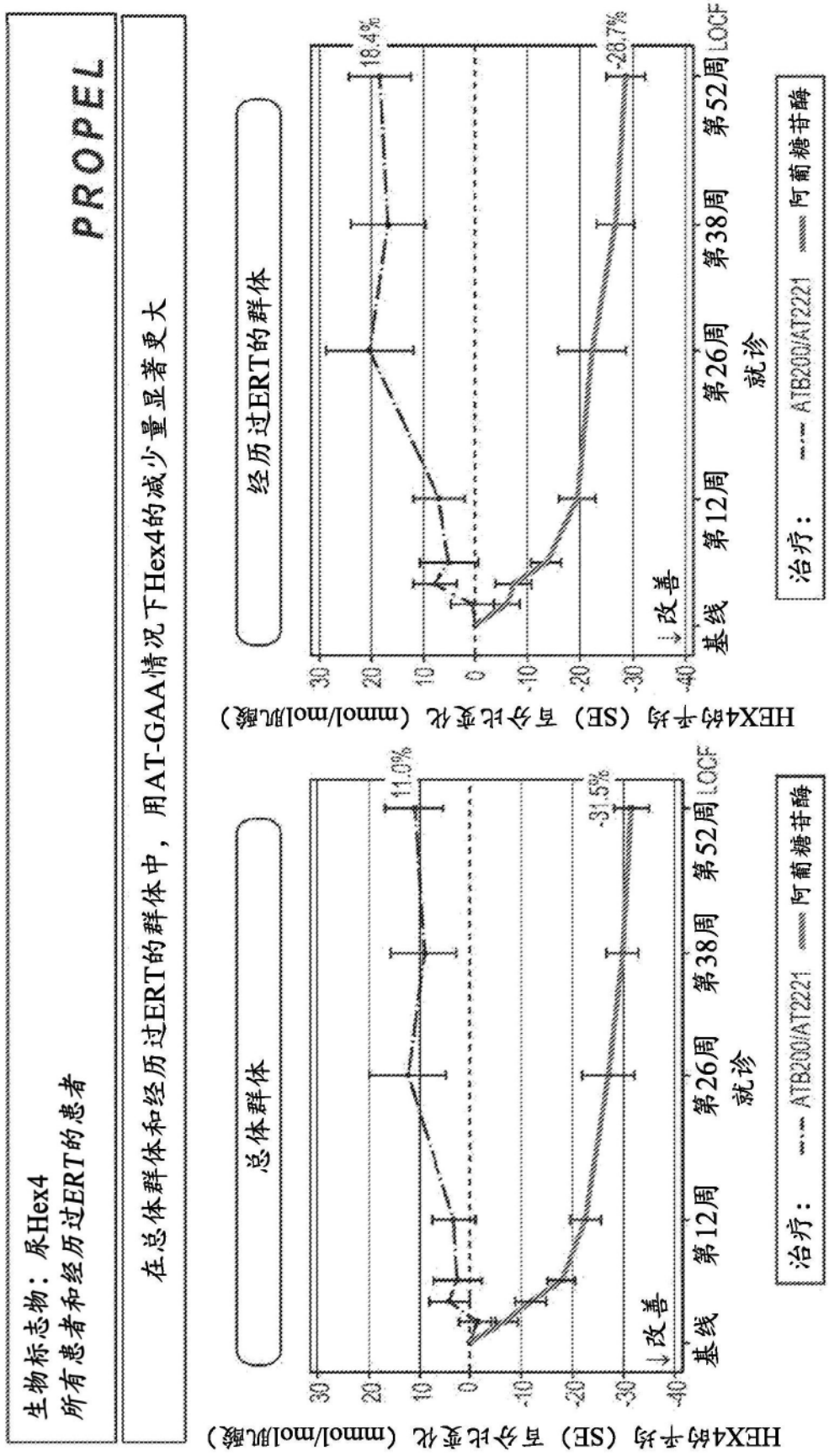

生物标志物：尿Hex4
所有患者和经历过ERT的患者
PROPEL
在总体群体和经历过ERT的群体中，用AT-GAA情况下Hex4的减少量显著更大
总体群体
经历过ERT的群体
HEX4总寡糖 (SE) 百分比变化 (mmol/mol肌酐)
基线
第12周
第26周
就诊
第38周
第52周 LOCF
改善
11.0%
31.5%
18.4%
28.7%
治疗：
ATB200/AT2221
阿葡糖苷酶

图33

主要、关键次要和生物标志物终点热图总体群体和经历过ERT的群体

相比于阿葡糖苷酶α，运动功能、肺功能、肌肉力量、PRO和生物标志物的终点在总体群体和经历过ERT的群体中均支持AT-GAA，并且相对于基线有所改善

	总体群体		经历过ERT	
	阿葡糖苷酶α	AT-GAA	阿葡糖苷酶α	AT-GAA
运动功能		6MWD		6MWD
		预测的6MWD%		预测的6MWD%
		GSGC*		GSGC*
		10米步行*		10米步行*
		爬4级楼梯*		爬4级楼梯*
	高尔斯		高尔斯	
		从椅子起身		从椅子起身
肺功能		FVC*		FVC*
		MIP		MIP
		MEP		MEP
肌肉力量		下肢 MMT		下肢 MMT
		上肢 MMT		上肢 MMT
		总 MMT		总 MMT
PRO		PROMIS-身体		PROMIS-身体
		PROMIS-疲劳		PROMIS-疲劳
生物标志物		Hex4*		Hex4*
		CK*		CK*

6MWD = 6分钟步行距离；CK = 肌酸激酶；FVC = 用力肺活量；GSGC = 步态、楼梯、高尔斯、椅子；Hex4 = 己糖四糖4；LOCF = 末次观察推进法；MEP = 最大呼气压力；MIP = 最大吸气压力；MMT = 徒手肌力测试；PRO = 患者报告的结果；PROMIS = 患者报告的结果测量信息系统。
基于LOCF手段；*标称P值 < 0.05

图34

安全性总结 PROPEL

AT-GAA和阿葡糖苷酶α的安全性谱相似

	AT-GAA n=85	阿葡糖苷酶α n=38
TEAE	81 (95.3%)	37 (97.4%)
可能与治疗相关的TEAE	26 (30.6%)	14 (36.8%)
严重的TEAE	8 (9.4%)	1 (2.6%)
可能与治疗相关的严重的TEAE	1 (1.2%)	0
导致研究退出的TEAE	2 (2.4%)	1 (2.6%)
导致死亡的TEAE	0	0
IAR	21 (24.7%)	10 (26.3%)

* 导致AT-GAA组中退出的TEAE是两个IAR，其中一个是严重的AE
* 导致阿葡糖苷酶组中退出的TEAE是由于中风（无关）
* AT-GAA的总体安全性谱与阿葡糖苷酶α相似

图35

执行总结

- 从已批准的ERT（阿葡糖苷酶α）转换为AT-GAA的患者比接受标准护理ERT治疗的患者步行多了16.9米（p = 0.046）
- 转换为AT-GAA的患者的预测用力肺活量（FVC）百分比也有所改善，FVC是庞贝病呼吸功能最重要的量度，相比之下，接受目前批准的ERT治疗的患者则出现衰退（FVC Diff. + 4.1% p = 0.006）
- 在经历过ERT的患者和ERT初治患者的总体研究群体中，与接受目前批准的ERT治疗的患者相比，AT-GAA在预测用力肺活量百分比的第一关键次要终点的优势方面显示出名义上具有统计学意义和临床意义的差异（FVC Diff. + 3.0%；p = 0.023）
- 在经历过ERT的患者和ERT初治患者的总体研究群体中，AT-GAA优于目前批准的ERT（+21米与+7米相比），这在优越方面并不具有统计学上的显著性（p = 0.072）
- 与目前批准的ERT相比，总体研究群体中庞贝病的两个重要生物标志物（Hex-4和CK）的改善显著支持AT-GAA（p < 0.001）
- 在总体群体和经历过ERT的群体中与标准护理相比，8个关键次要和生物标志物终点中的8个支持AT-GAA

图36

研究目的和统计方法
PROPEL
主要和次要目标
评估AT-GAA与阿葡糖苷酶α/安慰剂相比的功效：
步行功能，以6分钟步行距离（6MWD）衡量[主要]
肺功能，以预测坐姿用力肺活量（FVC）%来衡量
肌肉力量、健康相关的患者报告结果（PRO）和运动功能
统计方法
使用MMRM对ITT观察病例分析6MWD的主要终点
所有关键次要终点，包括末次观察推进法下通过ANCOVA分析的FVC（ITT LOCF）

图37

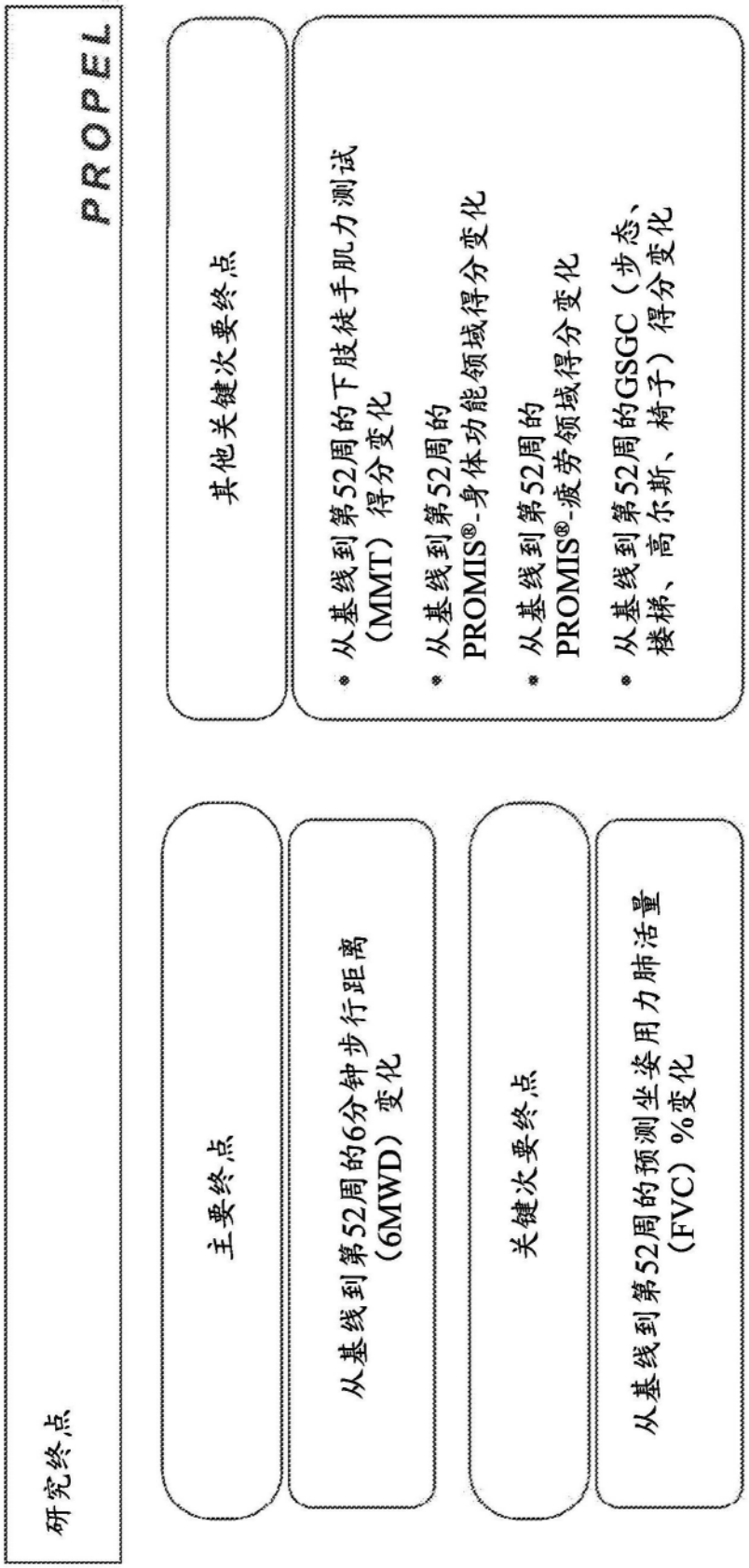

研究终点
PROPEL
主要终点
从基线到第52周的6分钟步行距离（6MWD）变化
关键次要终点
从基线到第52周的预测坐姿用力肺活量（FVC）%变化
其他关键次要终点
从基线到第52周的下肢徒手肌力测试（MMT）得分变化
从基线到第52周的PROMIS®-身体功能领域得分变化
从基线到第52周的PROMIS®-疲劳领域得分变化
从基线到第52周的GSGC（步态、楼梯、高尔斯、椅子）得分变化

图38

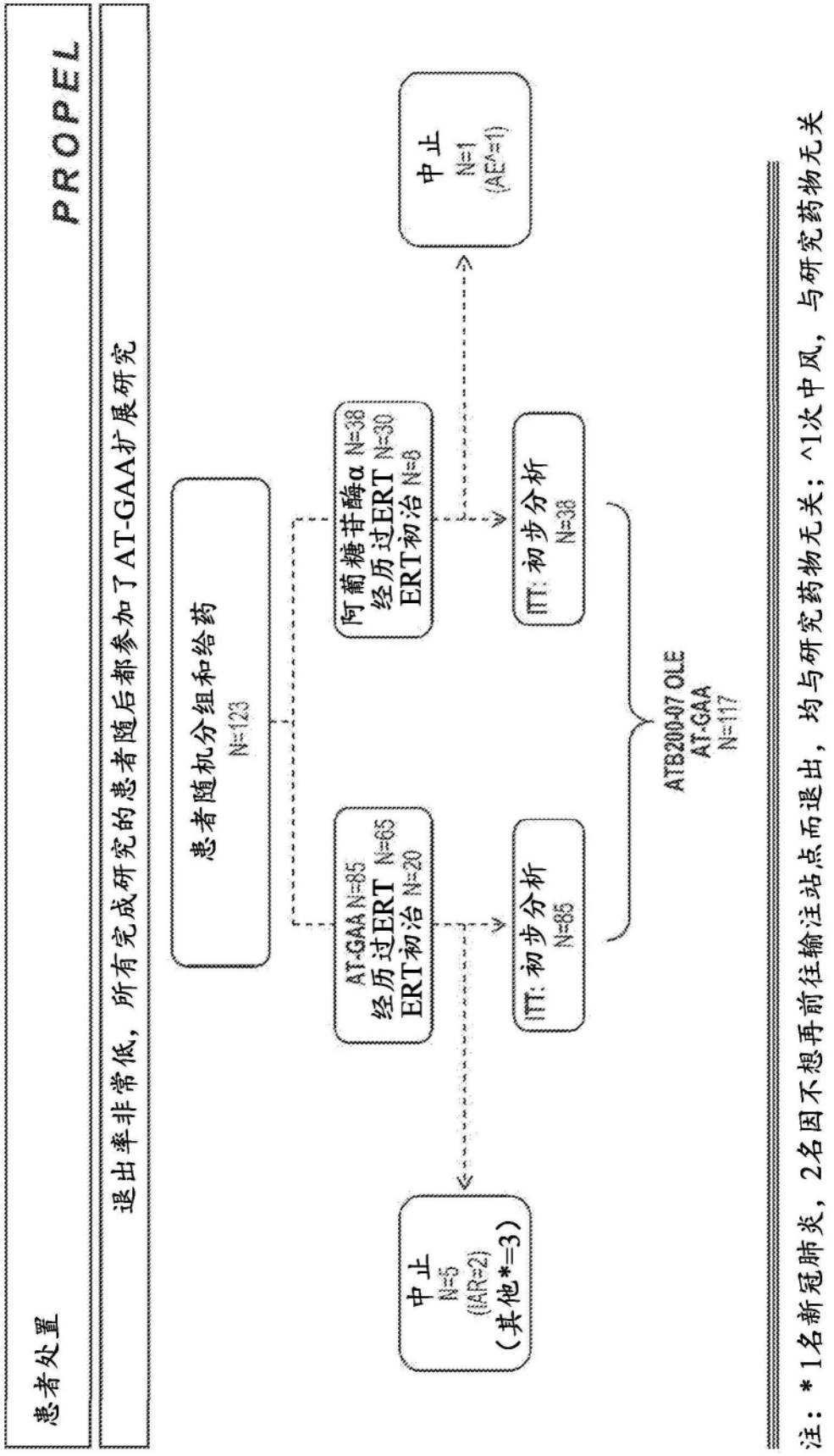

患者处置
PROPEL
退出率非常低，所有完成研究的患者随后都参加了AT-GAA扩展研究
患者随机分组和给药
N=123
AT-GAA N=85
经历过ERT N=65
ERT初治 N=20
阿葡糖苷酶α N=38
经历过ERT N=30
ERT初治 N=8
中止
N=5
(AR=2)
(其他*=3)
ITT: 初步分析
N=85
ITT: 初步分析
N=38
中止
N=1
(AE^=1)
ATB200-07 OLE
AT-GAA
N=117
注：*1名新冠肺炎，2名因不想再前往输注站点而退出，均与研究药物无关；^1次中风，与研究药物无关

图39

基线人口统计特征 PROPEL

基线人口统计特征具有群体代表性，并且在两个治疗组中总体相似

	AT-GAA n=85	阿葡糖苷酶α n=38	总计 n=123
年龄（岁）			
平均值（SD）	47.6 (13.3)	45.1 (13.3)	46.8 (13.3)
中位数（Min, Max）	48.0 (19, 74)	46.0 (22, 66)	47.0 (19, 74)
性别，n（%）			
男性	36 (42.4)	20 (52.6)	56 (45.5)
女性	49 (57.6)	18 (47.4)	67 (54.5)
之前的ERT持续时间(仅限经历过ERT)			
<3 年	4 (6.2)	5 (16.7)	9 (9.5)
3-5 年	16 (24.6)	6 (20.0)	22 (23.2)
>5 年	45 (69.2)	19 (63.3)	64 (67.4)
种族，n（%）			
白种人	74 (87.1)	30 (78.9)	104 (84.6)
亚洲人	5 (5.8)	5 (13.2)	10 (8.1)
其他	6 (7.1)	3 (7.9)	9 (7.3)
地区，n（%）			
北美洲/南美洲	26 (30.6)	15 (39.5)	41 (33.3)
欧洲	43 (50.6)	12 (31.6)	55 (44.7)
亚太地区	16 (18.8)	11 (28.9)	27 (22.0)

图40

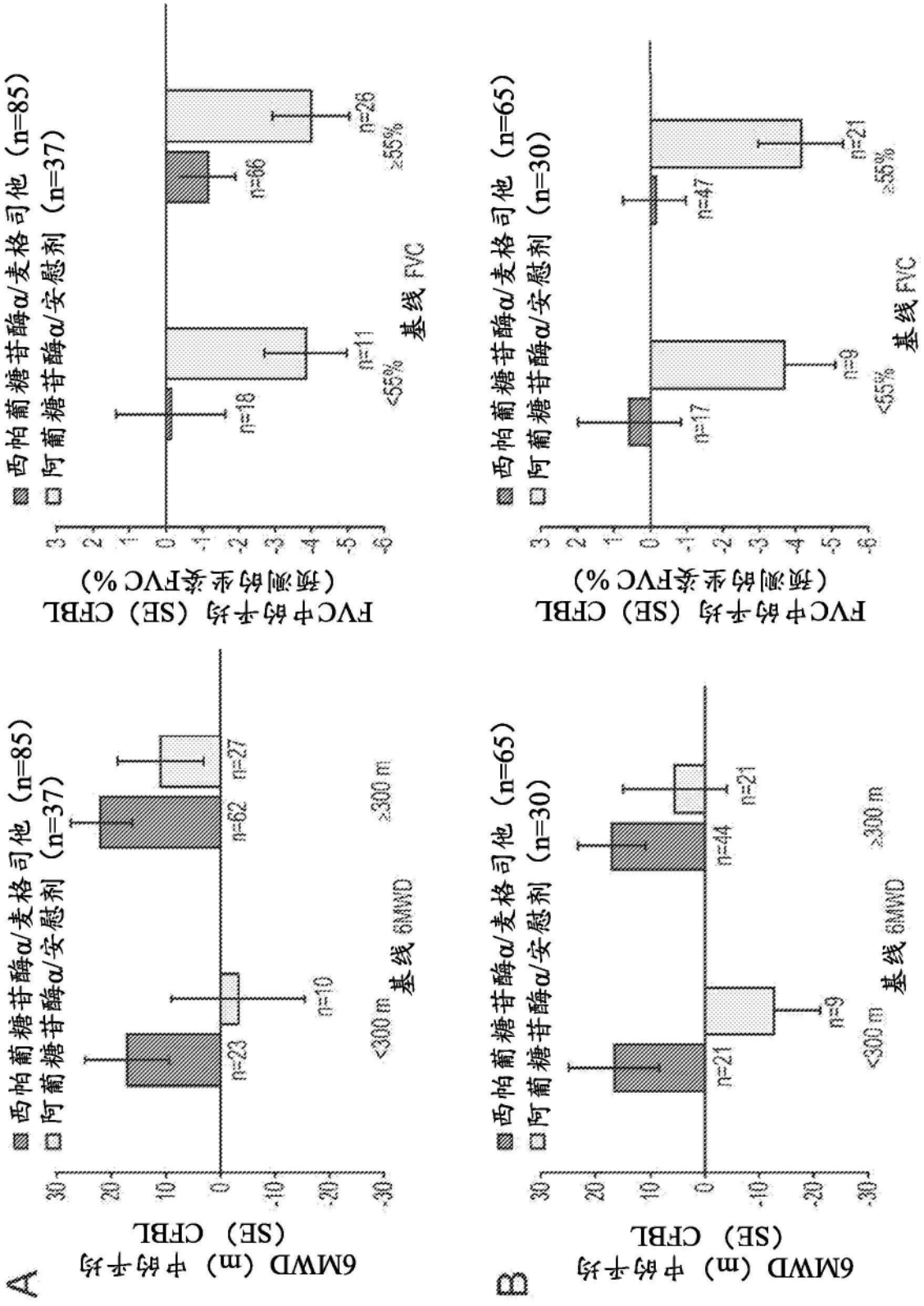

A
B
西帕葡糖苷酶α/麦格司他（n=85）
阿葡糖苷酶α/安慰剂（n=37）
西帕葡糖苷酶α/麦格司他（n=65）
阿葡糖苷酶α/安慰剂（n=30）
6MWD（m）中的平均（SE）CFBL
FVC中的平均（SE）CFBL（预测的坐姿FVC %）
n=23
n=10
n=62
n=27
n=21
n=9
n=44
n=21
n=18
n=11
n=66
n=26
n=17
n=9
n=47
n=21
<300 m
≥300 m
基线 6MWD
<55%
≥55%
基线 FVC

图41

TEAE	西帕葡糖苷酶α/麦格司他 n=85	阿葡糖苷酶α/安慰剂 n=38
摔倒	25 (29.4)	15 (39.5)
头痛	20 (23.5)	9 (23.7)
鼻咽炎	19 (22.4)	3 (7.9)
肌痛	14 (16.5)	5 (13.2)
关节痛	13 (15.3)	5 (13.2)
尿路感染	12 (14.1)	2 (5.3)
腹泻	11 (12.9)	4 (10.5)
四肢疼痛	11 (12.9)	2 (5.3)
恶心	10 (11.8)	8 (21.1)
肌肉骨骼疼痛	10 (11.8)	2 (5.3)
口咽痛	10 (11.8)	2 (5.3)
背疼	9 (10.6)	7 (18.4)
疲劳	8 (9.4)	5 (13.2)

数据为n (%)。

图42

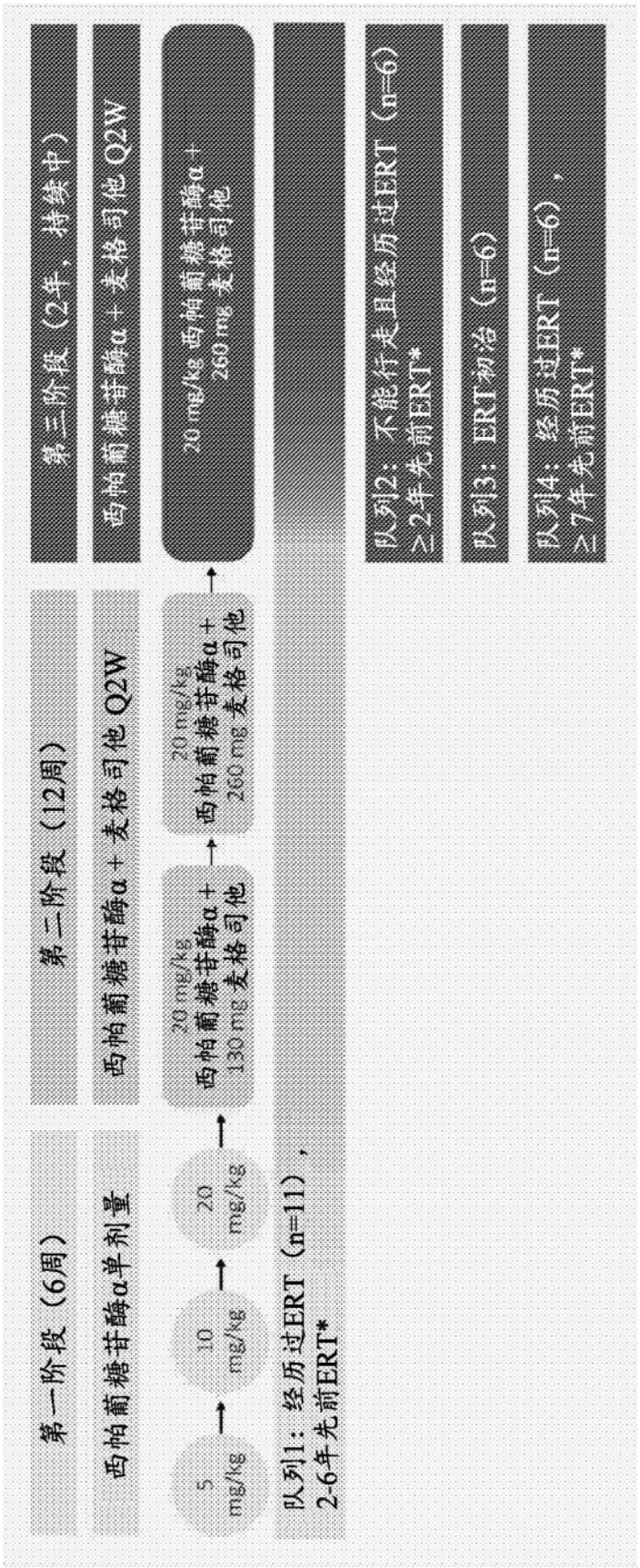

第一阶段（6周）
西帕葡糖苷酶α单剂量
5 mg/kg
10 mg/kg
20 mg/kg
队列1：经历过ERT（n=11），2-6年先前ERT*
第二阶段（12周）
西帕葡糖苷酶α + 麦格司他 Q2W
20 mg/kg 西帕葡糖苷酶α + 130 mg 麦格司他
20 mg/kg 西帕葡糖苷酶α + 260 mg 麦格司他
第三阶段（2年，持续中）
西帕葡糖苷酶α + 麦格司他 Q2W
20 mg/kg 西帕葡糖苷酶α + 260 mg 麦格司他
队列2：不能行走且经历过ERT（n=6）≥2年先前ERT*
队列3：ERT初治（n=6）
队列4：经历过ERT（n=6），≥7年先前ERT*
*用20 mg/kg阿葡糖苷酶α Q2W。Q2W，每2周。

图43

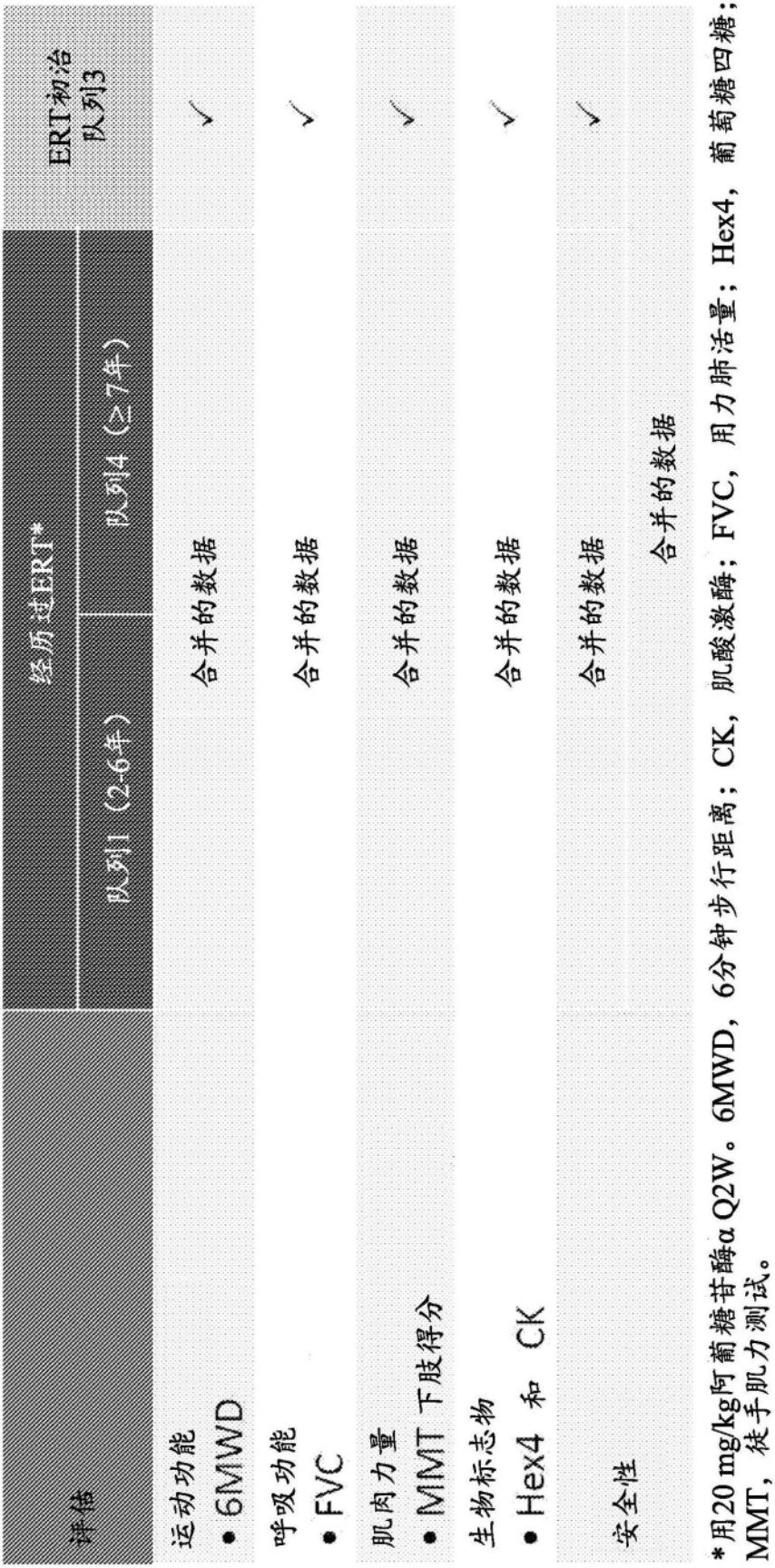

评估
经历过ERT*
队列1（2-6年）
队列4（≥7年）
ERT初治
队列3
运动功能
• 6MWD
合并的数据
✓
呼吸功能
• FVC
合并的数据
✓
肌肉力量
• MMT 下肢得分
合并的数据
✓
生物标志物
• Hex4 和 CK
合并的数据
✓
安全性
合并的数据
✓
*用20 mg/kg阿葡糖苷酶α Q2W。6MWD，6分钟步行距离；CK，肌酸激酶；FVC，用力肺活量；Hex4，葡萄糖四糖；MMT，徒手肌力测试。

图44

	经历过ERT		ERT初治
	队列1 2-6年先前ERT n=11*	队列4 ≥7年先前ERT n=6	队列3 n=6
基线特征			
中位年龄（范围），岁	50.0 (28–66)	43.0 (20–65)	51.0 (24–65)
性别，M:F	9:2	2:4	1:5
使用阿葡糖苷酶α的平均（SD）时间，年	4.7 (1.4)	9.4 (1.2)	N/A†
平均值 (SD) 6MWD, m	397.2 (96.8)	387.3 (161.3)	396.0 (75.2)
平均（SD）坐姿FVC，预测%	52.6 (13.9)	65.3 (21.1)	57.2 (20.8)
平均（SD）MMT下肢得分	31.8 (1.9)	27.3 (3.7)	29.0 (1.7)
患者处置			
研究正在进行中，n（%）	9 (82)	6 (100)	6 (100)

*所有入组患者均包括在功效和安全性群体中，但队列1中的一名患者除外，该患者因在基线后功效评估之前撤回同意而被排除在功效群体之外。†1名ERT初治患者在研究开始前＞6个月已接受1剂阿葡糖苷酶α。m：米，M:F：男:女；N/A，不适用；SD，标准偏差。

图45

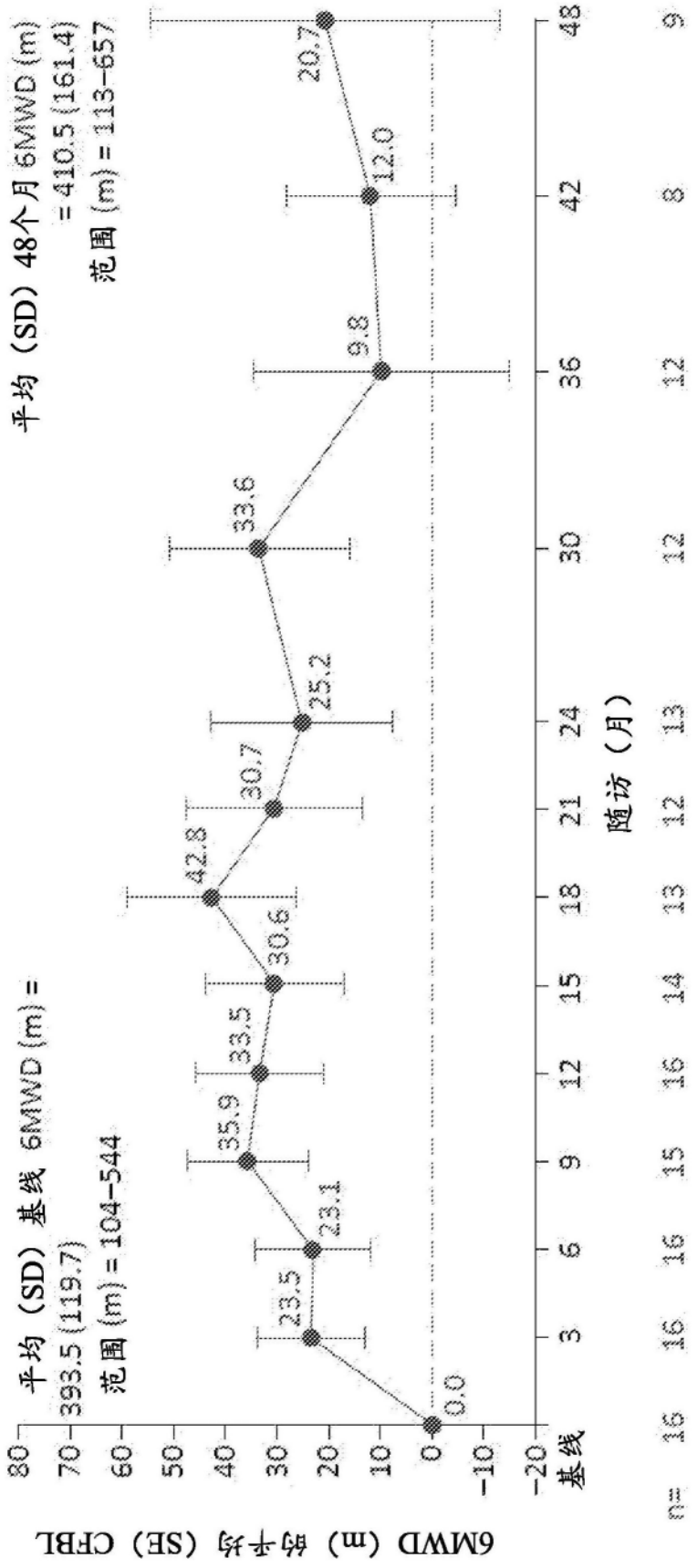

6MWD (m) 的平均 (SE) CFBL
80
70
60
50
40
30
20
10
0
−10
−20
基线
3
6
9
12
15
18
21
24
30
36
42
48
随访 (月)
n= 16 16 16 15 16 15 14 13 12 13 12 12 8 9
平均 (SD) 基线 6MWD (m) = 393.5 (119.7)
范围 (m) = 104–544
平均 (SD) 48个月 6MWD (m) = 410.5 (161.4)
范围 (m) = 113–657
0.0
23.5
23.1
35.9
33.5
30.6
42.8
30.7
25.2
33.6
9.8
12.0
20.7

图46A

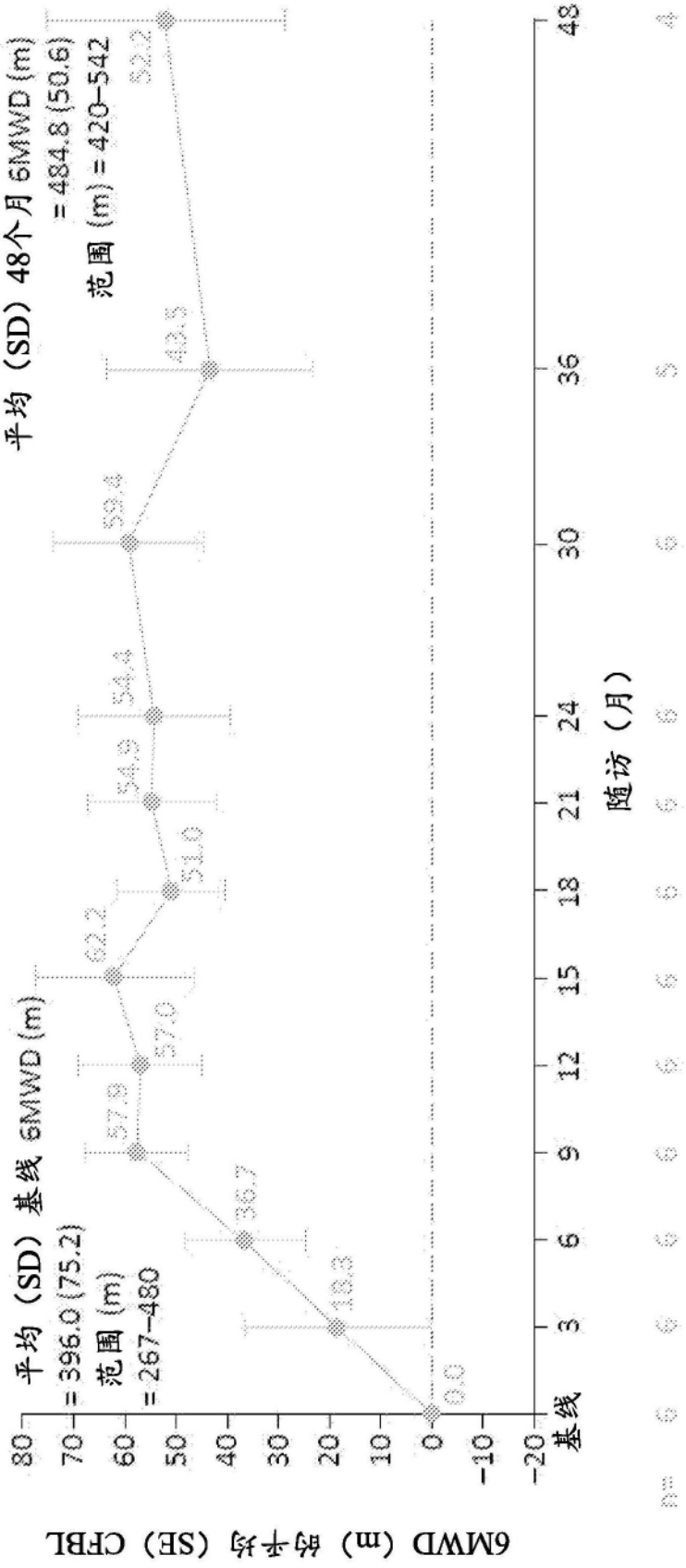

6MWD (m) 的平均 (SE) CFBL
平均 (SD) 基线 6MWD (m)
= 396.0 (75.2)
范围 (m)
= 267–480
平均 (SD) 48个月 6MWD (m)
= 484.8 (50.6)
范围 (m) = 420–542
随访 (月)
基线
0.0
18.3
38.7
57.9
57.0
62.2
51.0
54.9
54.4
59.4
49.3
52.2
n=

图46B

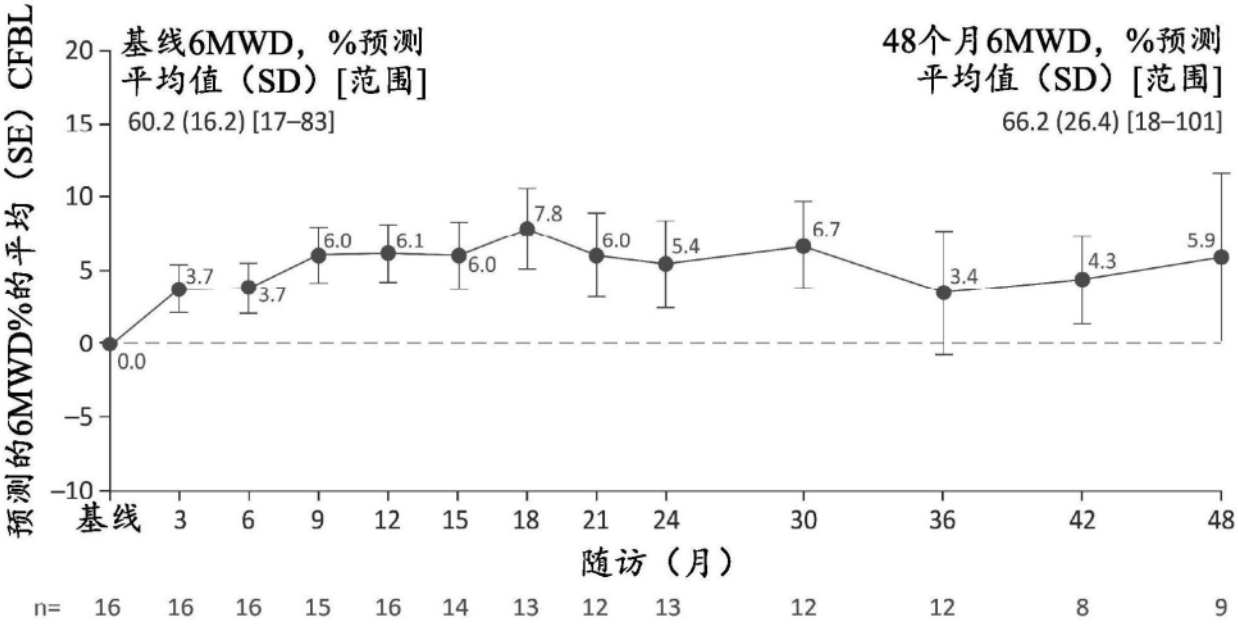
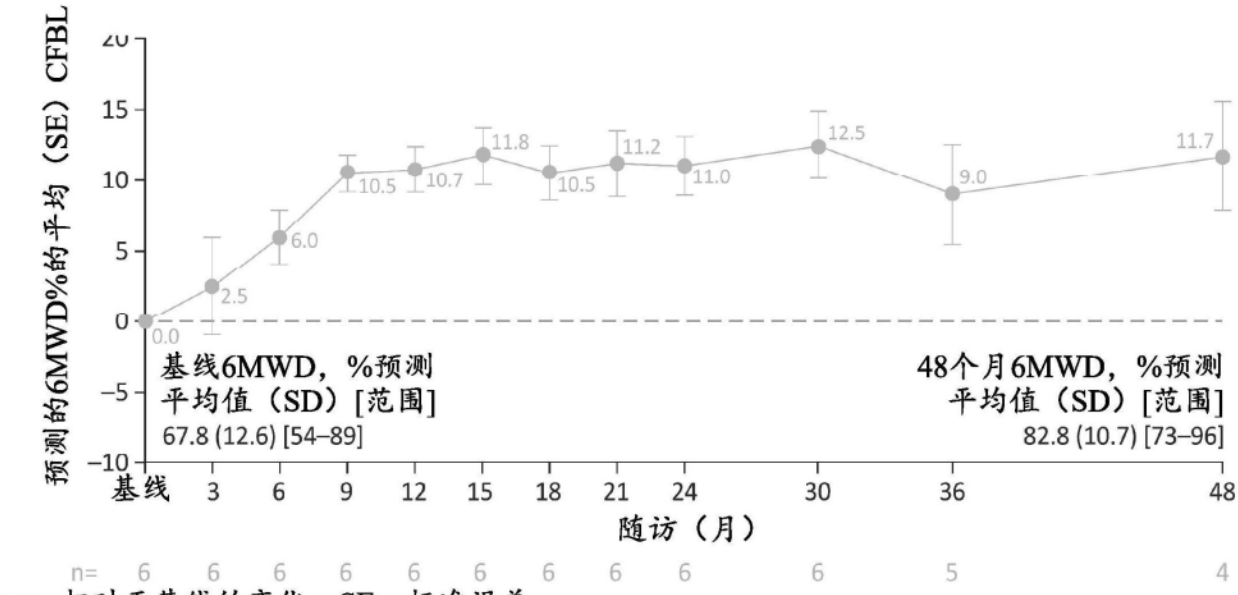


图46C



CFBL，相对于基线的变化；SE，标准误差。

图46D

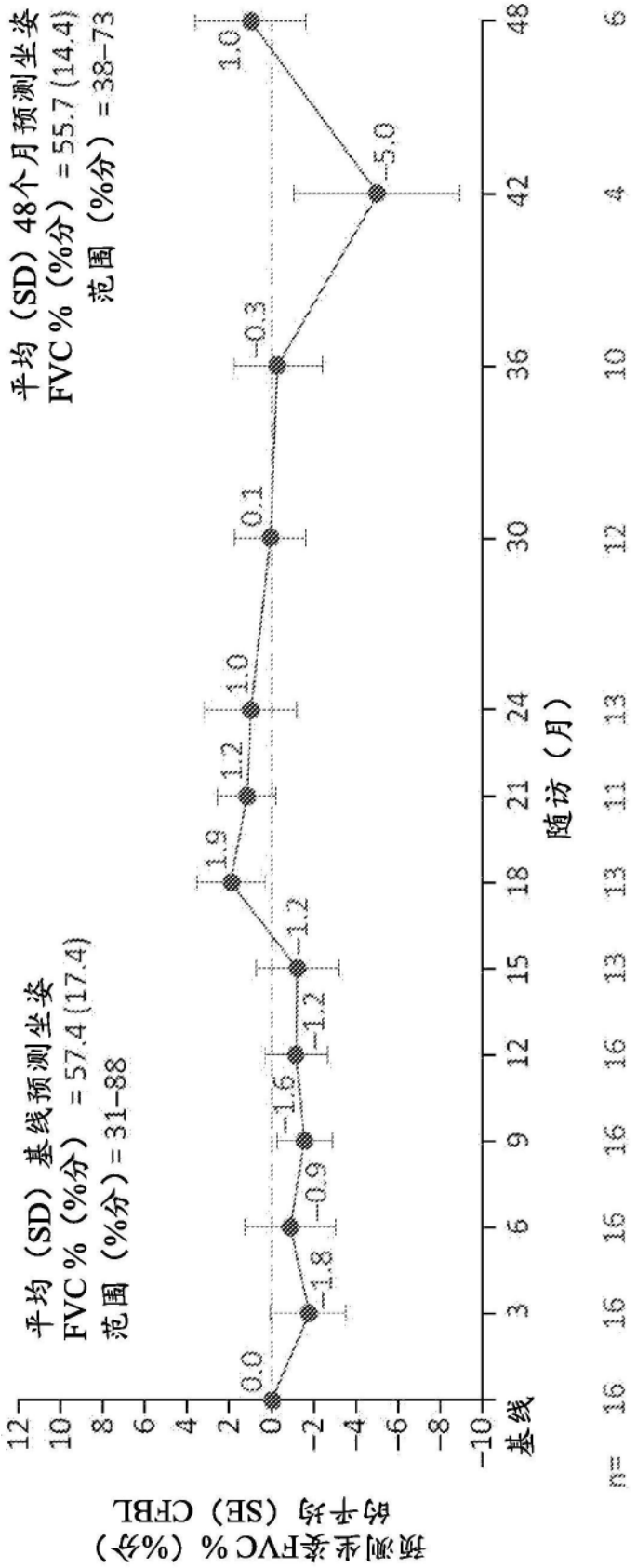
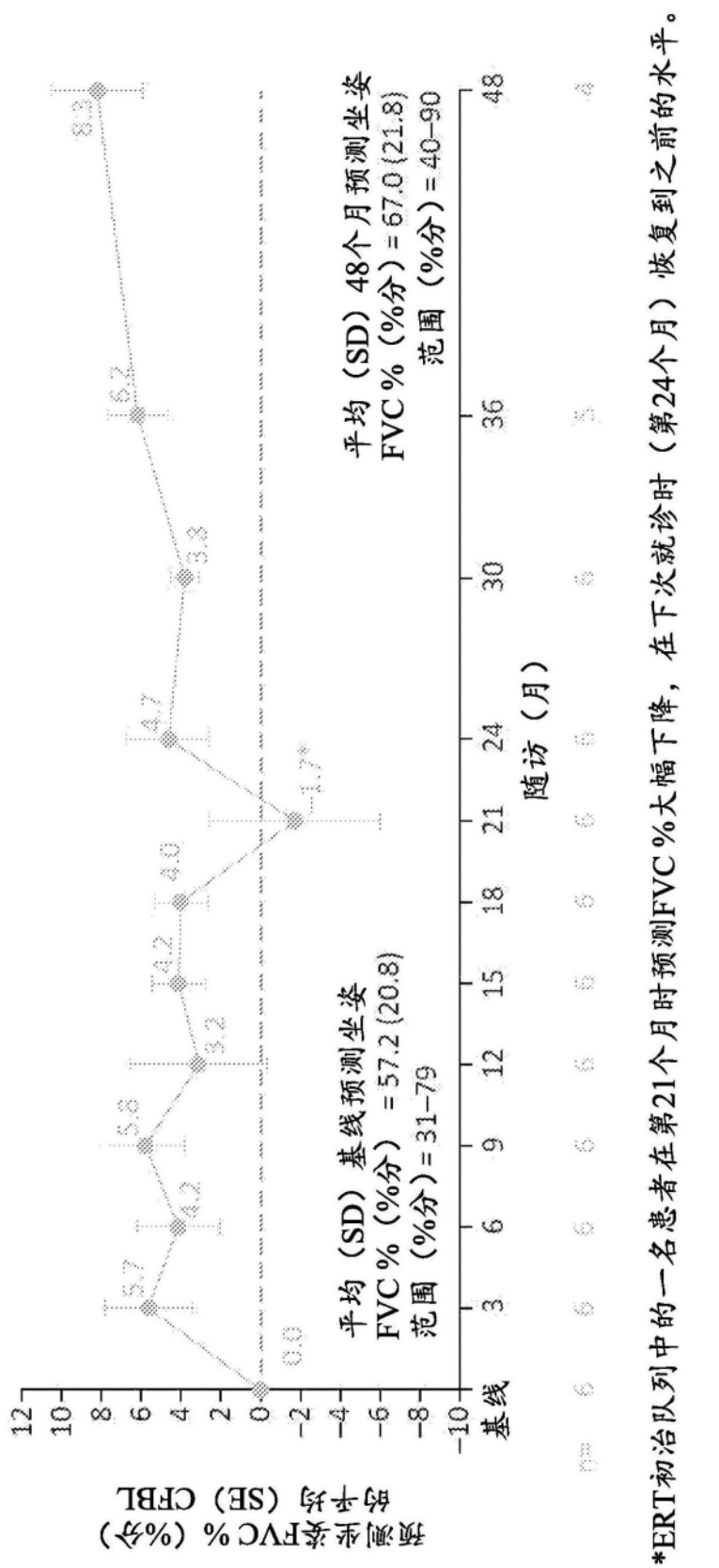

平均（SD）48个月预测坐姿
FVC %（%分）=55.7(14.4)
范围（%分）=38–73
平均（SD）基线预测坐姿
FVC %（%分）=57.4(17.4)
范围（%分）=31–88
预测坐姿FVC %（%分）
的平均（SE）CFBL
随访（月）
基线
n=
0.0
-1.8
-0.9
-1.6
-1.2
-1.2
1.9
1.2
1.0
0.1
-0.3
-5.0
1.0

图47A



*ERT初治队列中的一名患者在第21个月时预测FVC %大幅下降，在下次就诊时（第24个月）恢复到之前的水平。

图47B

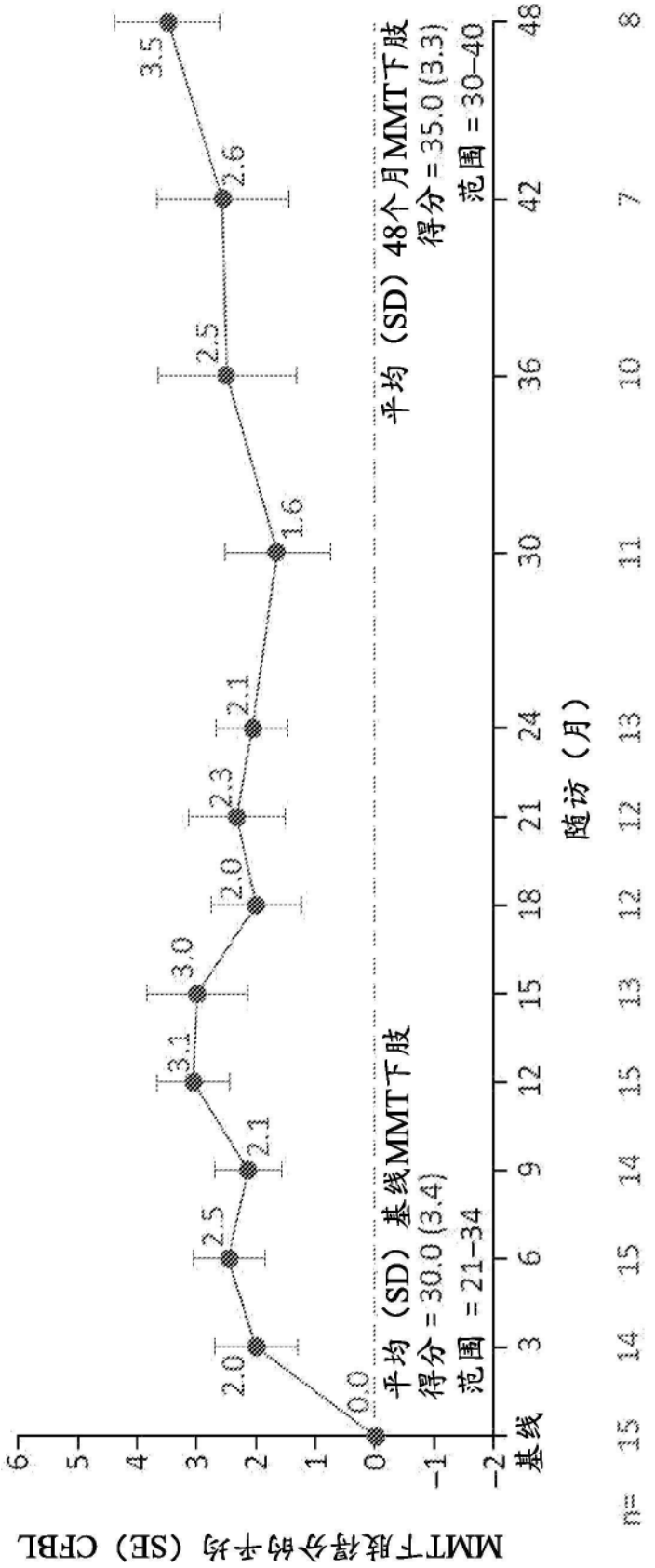

MMT下肢得分的平均（SE）CFBL
随访（月）
平均（SD）基线MMT下肢
得分 = 30.0 (3.4)
范围 = 21–34
平均（SD）48个月MMT下肢
得分 = 35.0 (3.3)
范围 = 30–40
n=
基线

图48A

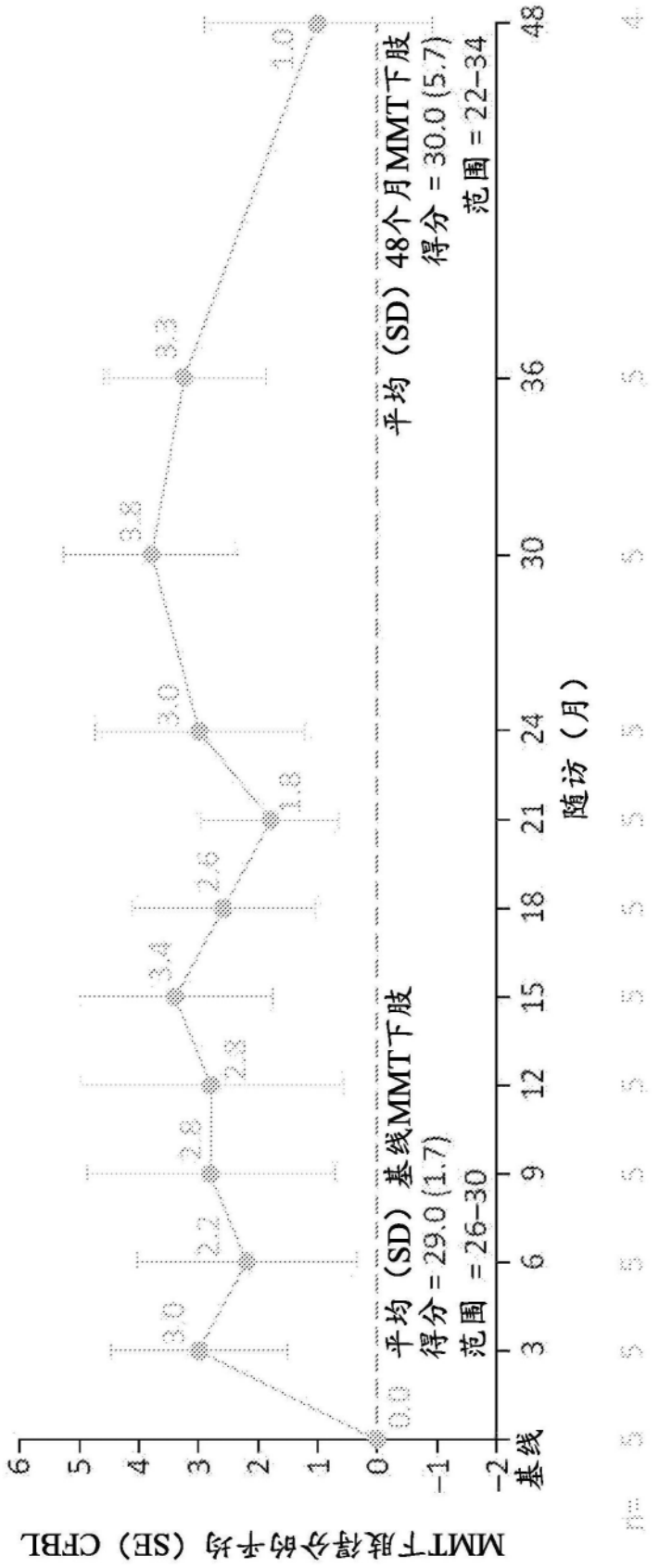

MMT下肢得分的平均（SE）CFBL
随访（月）
基线
平均（SD）基线MMT下肢
得分 = 29.0 (1.7)
范围 = 26–30
平均（SD）48个月MMT下肢
得分 = 30.0 (5.7)
范围 = 22–34
0.0
3.0
2.2
2.8
2.8
3.4
2.6
1.8
3.0
3.8
3.3
1.0
n=

图48B

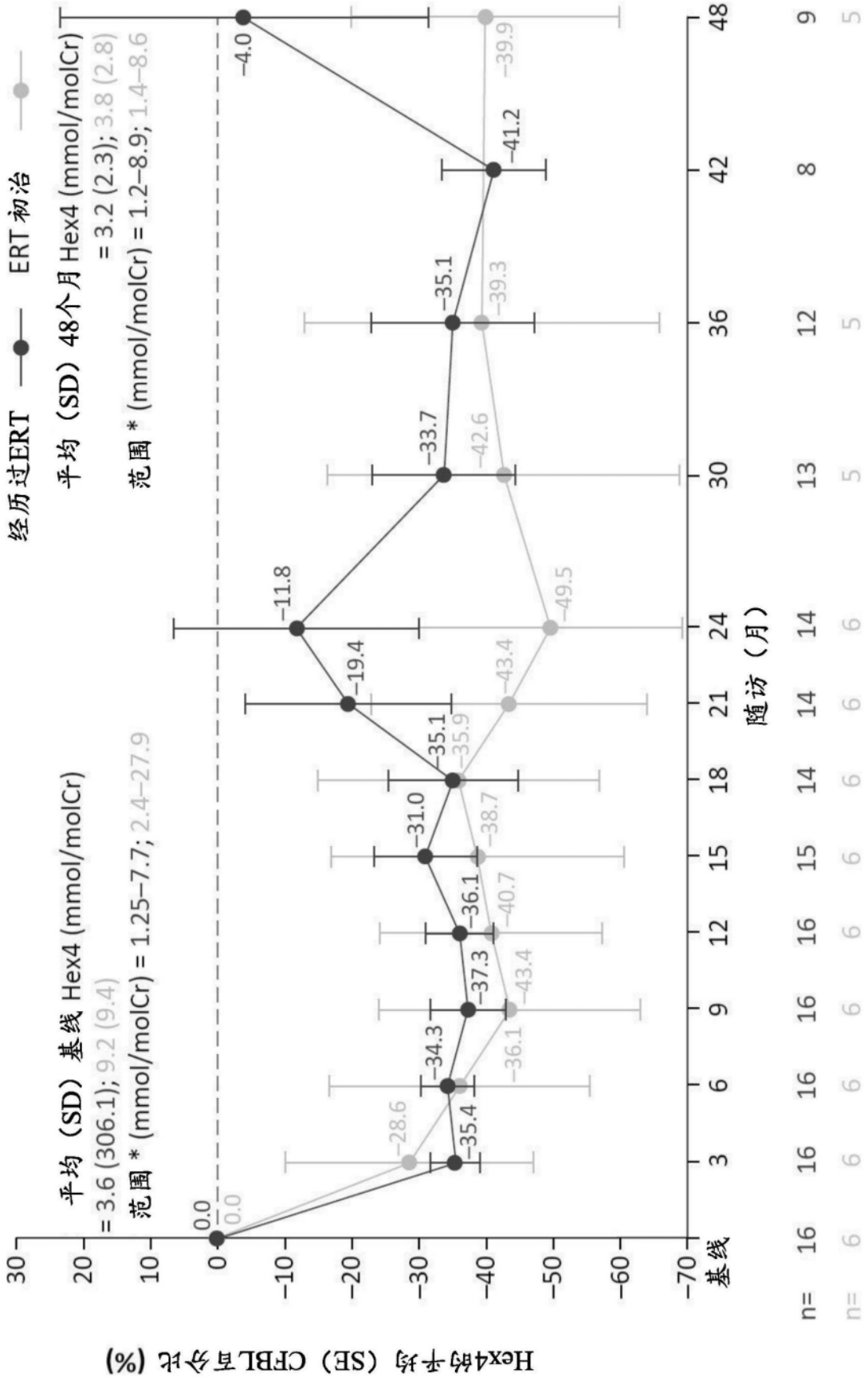

经历过ERT
ERT初治
平均（SD）基线 Hex4 (mmol/molCr)
= 3.6 (306.1); 9.2 (9.4)
范围 * (mmol/molCr) = 1.25–7.7; 2.4–27.9
平均（SD）48个月 Hex4 (mmol/molCr)
= 3.2 (2.3); 3.8 (2.8)
范围 * (mmol/molCr) = 1.2–8.9; 1.4–8.6
Hex4的平均（SE）CFBL百分比 (%)
随访（月）
基线
n=

图49A

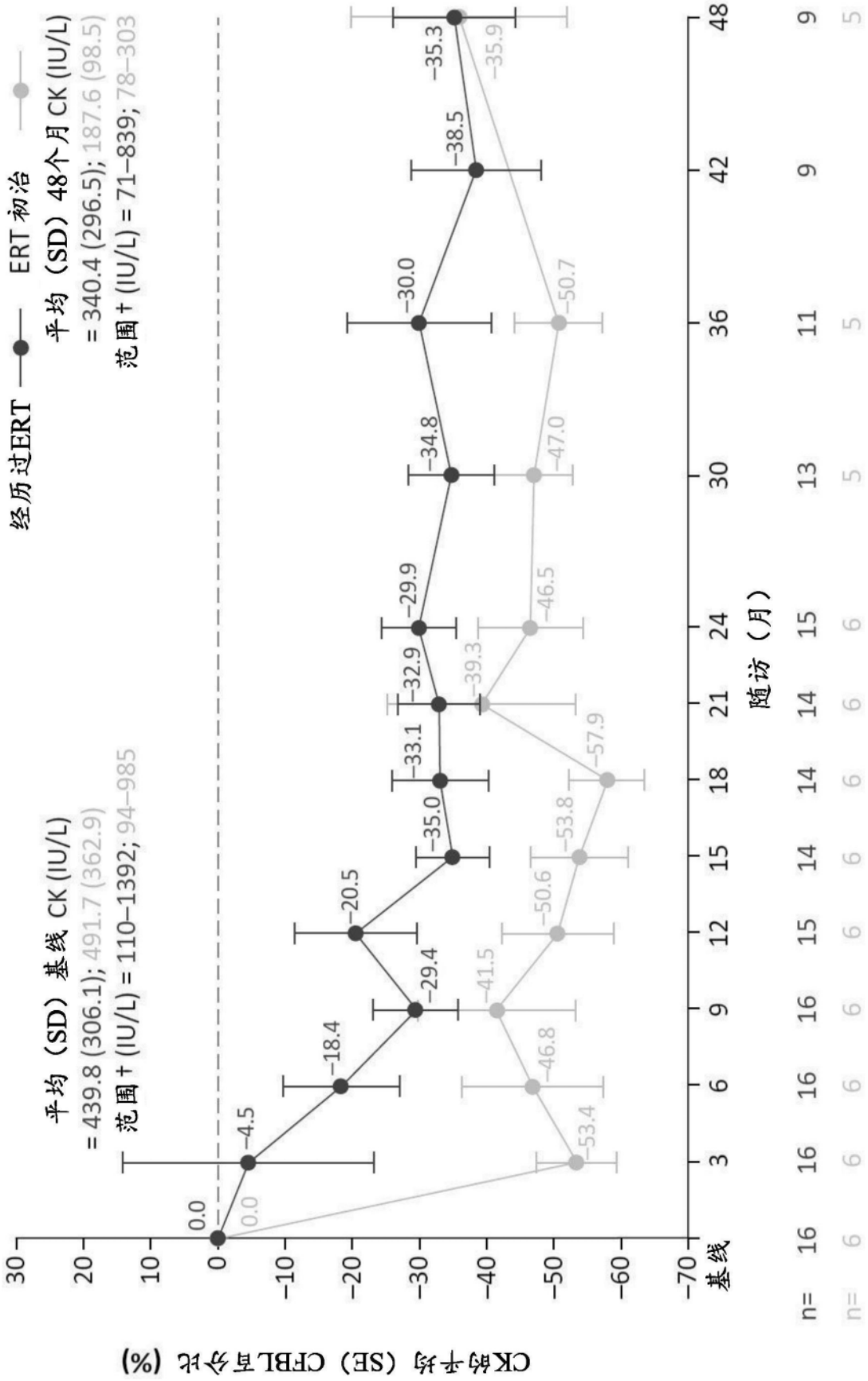

经历过ERT
ERT 初治
平均（SD）基线 CK (IU/L)
= 439.8 (306.1); 491.7 (362.9)
范围 † (IU/L) = 110–1392; 94–985
平均（SD）48个月 CK (IU/L)
= 340.4 (296.5); 187.6 (98.5)
范围 † (IU/L) = 71–839; 78–303
CK的平均（SE）CFBL百分比 (%)
随访（月）
基线
n=
0.0
-4.5
-18.4
-29.4
-20.5
-35.0
-33.1
-32.9
-29.9
-34.8
-30.0
-38.5
-35.3
0.0
-53.4
-46.8
-41.5
-50.6
-53.8
-57.9
-39.3
-46.5
-47.0
-50.7
-35.9

图49B

	经历过ERT n=17	ERT初治 n=6	总体 N=23
TEAE，n (%)	17 (100)	6 (100)	23 (100)
可能与治疗相关的TEAE	11 (65)	4 (67)	15 (65)
严重的TEAE	6 (35)	4 (67)	10 (44)
可能与治疗相关的严重的TEAE	1 (6)	2 (33)	3 (13)
导致研究退出的TEAE	1 (6)*	0 (0)	1 (4)
导致死亡的TEAE	0 (0)	0 (0)	0 (0)
IAR	8 (47)	3 (50)	11 (48)

TEAE的发病日期为研究药物首个剂量时或之后。*弥漫性大B细胞淋巴瘤。IAR，输注相关反应。

图50

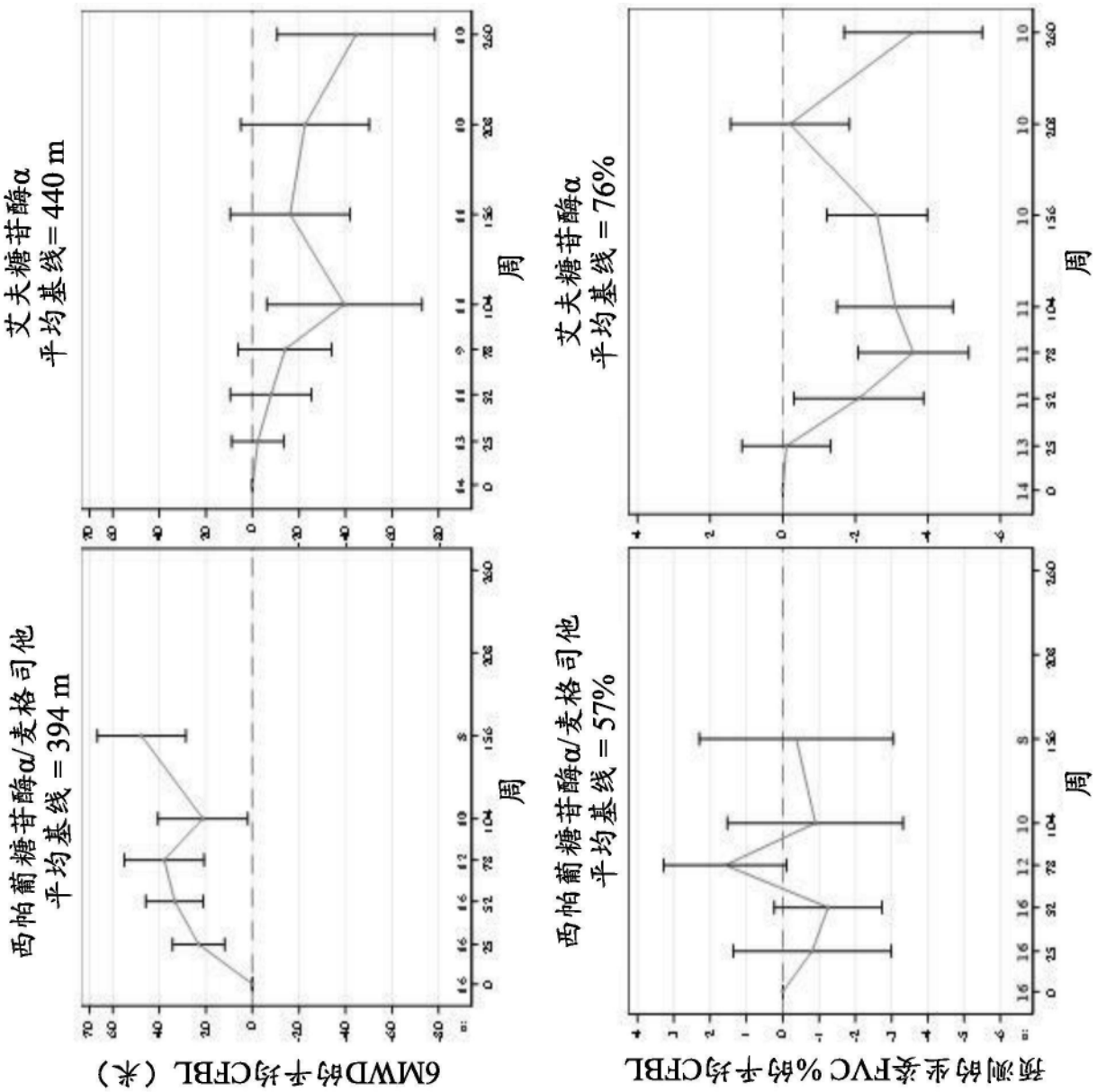

艾夫糖苷酶α
平均基线= 440 m
西帕葡糖苷酶α/麦格司他
平均基线 = 394 m
6MWD的平均CFBL（米）
周
艾夫糖苷酶α
平均基线 = 76%
西帕葡糖苷酶α/麦格司他
平均基线 = 57%
预测的坐姿FVC %的平均CFBL
周

图51

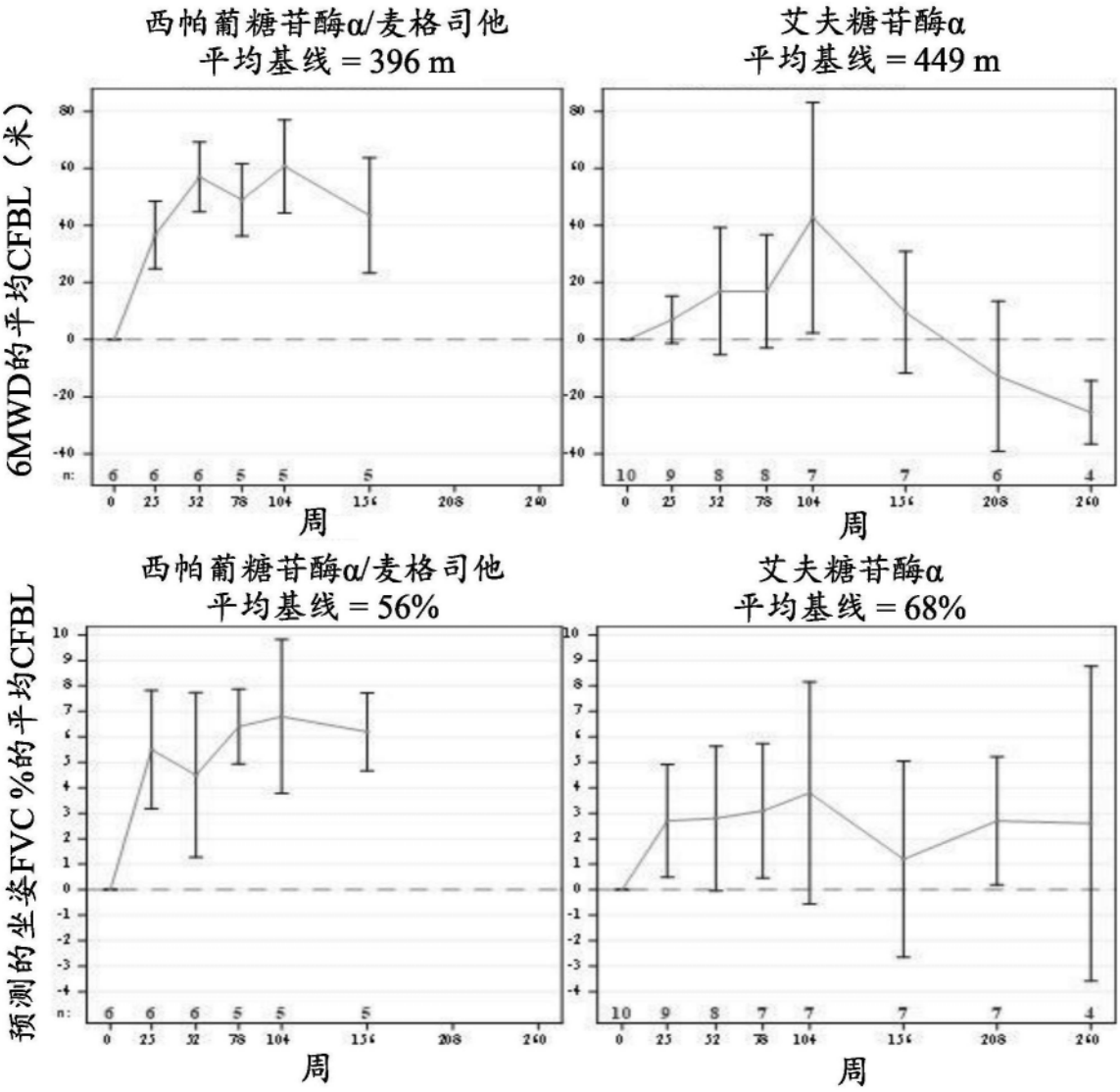

西帕葡糖苷酶α/麦格司他
平均基线 = 396 m
艾夫糖苷酶α
平均基线 = 449 m
6MWD的平均CFBL（米）
周
西帕葡糖苷酶α/麦格司他
平均基线 = 56%
艾夫糖苷酶α
平均基线 = 68%
预测的坐姿FVC %的平均CFBL
周

图52

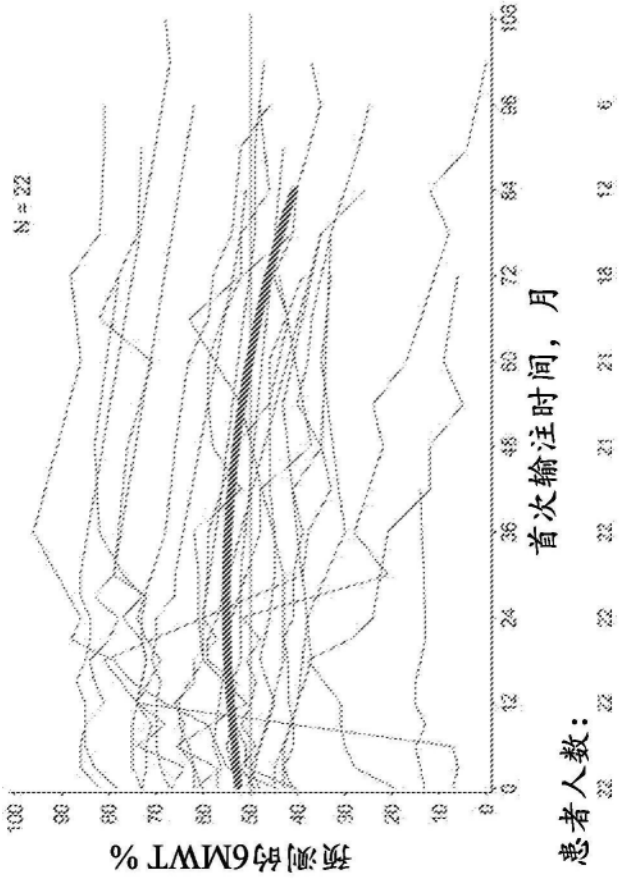


图53A

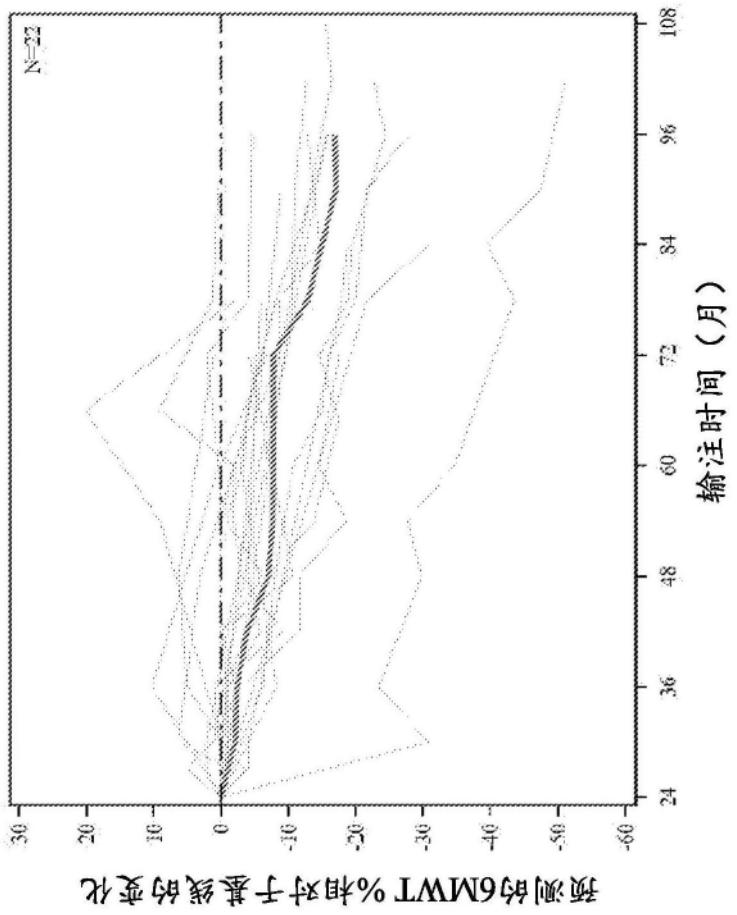

N=22
30
20
10
0
-10
-20
-30
-40
-50
-60
24
36
48
60
72
84
96
108
输注时间（月）
预测的6MWT %相对于基线的变化

图53B

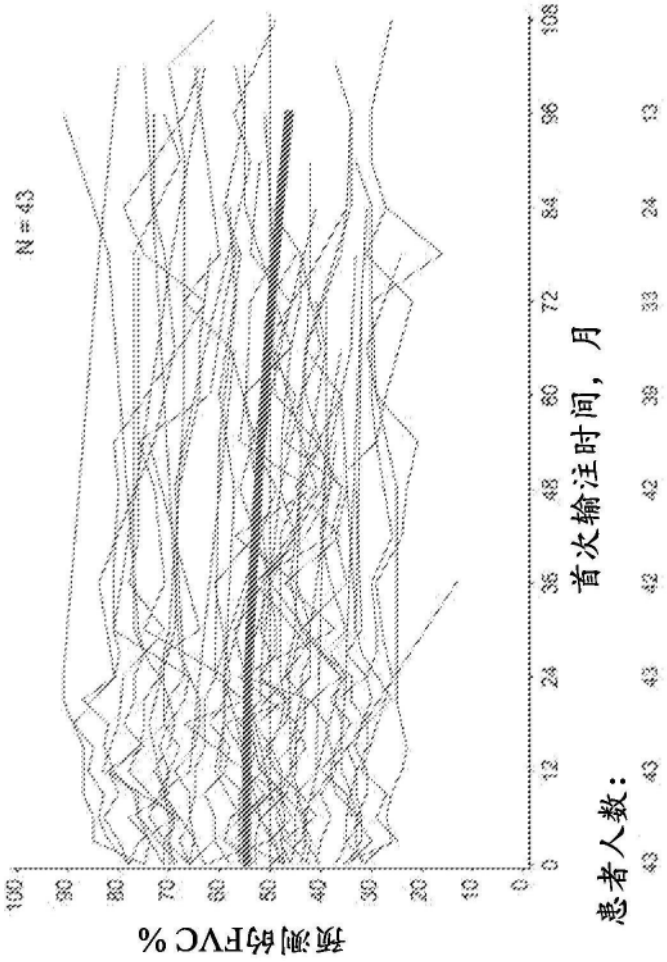

预测的FVC %
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
N = 43
首次输注时间，月
0
12
24
36
48
60
72
84
96
108
患者人数：
43 43 43 42 42 42 39 33 24 13

图54

不能行走的经历过ERT的患者报告的终点和队列总结（队列2）

- 队列2包括6名不能行走的经历过ERT的患者
  - 不能行走的人被定义为使用轮椅且无法在辅助下行走的人

评估	队列2 ≥2年先前ERT*
6MWD	未收集数据
FVC	✓
MMT下肢得分	未收集数据
MMT总得分（上半身）	✓
CK 和 Hex4	✓
安全性	✓

*用20 mg/kg阿葡糖苷酶α Q2W。6MWD，6分钟步行距离；CK，肌酸激酶；ERT，酶替代疗法；FVC，用力肺活量；Hex4，葡萄糖四糖；MMT，徒手肌力测试。

图55

不能行走的经历过ERT的患者的基线特征和患者处置（队列2）

	队列2 ≥2年先前ERT N=6
基线*特征	
中位年龄（范围），岁	49.5 (18–57)
性别，M:F	4:2
使用阿葡糖苷酶α的平均（SD）时间，年	10.1 (4.8)
平均（SD）坐姿FVC，预测%	42.3 (28.2)
平均（SD）MMT总得分（上半身）	18.4 (14.0)
患者处置	
研究正在进行中，n（%）	5 (83)

*基线评估是在研究药物首个剂量（20 mg/kg西帕葡糖苷酶α + 260 mg 麦格司他共同施用剂量）施用时或之前的最后一个非缺失结果。M:F，男:女；SD，标准偏差。

图56

不能行走的经历过ERT的患者的多个终点和生物标志物的CFBL（队列2）

	随访（月）									
	12		24		36		48			
	n	平均值 (SD)	n	平均值 (SD)	n	平均值 (SD)	n	平均值 (SD)		
终点										
预测的坐姿FVC%，%分	2	2.5 (9.2)	1	2.0 (N/A)	2	-2.0 (7.1)	1	-1.0 (N/A)		
MMT总得分（上半身）	4	1.3 (3.4)	4	2.0 (6.6)	4	-0.8 (10.7)	N/A	N/A		
Hex4, %	5	-15.6 (16.7)	5	-34.1 (14.1)	4	-36.5 (23.1)	2	-4.0 (82.6)		
CK, %	5	-20.8 (8.8)	5	-25.3 (16.8)	4	-27.1 (32.4)	2	-23.7 (23.9)		

CFBL，相对于基线的变化；N/A，不适用。

图57

不能行走的经历过ERT的患者的安全性总结（队列2）

	队列2 ≥2年先前ERT N=6
TEAE，n (%)	6 (100)
可能与治疗相关的TEAE	5 (83)
严重的TEAE	2 (33)
可能与治疗相关的严重的TEAE	1 (17)
导致研究退出的TEAE	1 (17)*
严重的TEAE	2 (33)
导致死亡的TEAE	0 (0)
IAR	2 (33)

* 平均（SD）治疗持续时间为46.3（22.86）个月

* 最常见的TEAE是鼻咽炎和腹泻（均发生在3名患者中）；大多数TEAE的严重程度为轻度或中度，不会导致研究退出

*荨麻疹被认为是IAR。IAR，输注相关反应；TEAE，治疗中出现的不良事件，在研究药物首个剂量时或之后发生。

图58

试验名称	群体	治疗	N	年龄，平均值(SD)	男性 (%)	白种人 (%)	ERT持续时间（以年为单位），平均值（SD）	6MWD，以米为单位，平均值（SD）	坐姿FVC（预测%），平均值（SD）
LOTS[1]	ERT 初治	Alglu	60	45.3 (12.4)	57.0	95.0	0 (0)	332.2 (126.7)	55.4 (14.4)
	ERT 初治	安慰剂	30	42.6 (11.6)	37.0	90.0	0 (0)	317.9 (132.3)	53.0 (15.7)
LOTS OLE[2]	ERT初治	Alglu	26	44.1 (11.6)	37.0	90.0	0 (0)	313.0 (147.0)	51.1 (15.8)
NEO-1/-EXT[3, 4]	ERT 初治	Aval	10	44.8 (20.3)	30.0	80.0	0 (0)	449.0 (118.0)	69.2 (19.3)
	经历过ERT	Aval	14	46.7 (14.1)	64.0	93.0	4.0 (2.0)	440.0 (141.0)	77.3 (16.5)
COMET[5]	ERT 初治	Aval	51	46.0 (14.5)	52.9	92.2	0 (0)	399.3 (110.9)	62.5 (14.4)
	ERT 初治	Alglu	49	50.3 (13.7)	51.0	95.9	0 (0)	378.1 (116.2)	61.6 (12.4)
COMET OLE[3]	经历过ERT	Aval	43	50.3 (13.7)	51.0	96.0	0.94 (0)	384.0 (141.0)	61.2 (13.5)
ATB200-02[6]	经历过ERT	Cipa+mig	17	45.7 (36.0)	65.0	81.0	6.36 (1.3)	394.0 (120.0)	57.1 (17.9)
	ERT 初治	Cipa+mig	6	46.1 (39.1)	17.0	70.0	0 (0)	396.0 (75.0)	55.8 (19.1)
PROPEL[7]	ERT初治和经历过ERT	Cipa+mig	85	47.6 (13.3)	42.4	87.1	5.7 (4.3)	357.9 (111.8)	70.7 (19.6)
	ERT初治和经历过ERT	Alglu*	37	45.4 (13.4)	51.4	78.4	5.8 (4.3)	351.0 (121.3)	70.0 (21.3)

*完成研究的阿葡糖苷酶α加安慰剂组的一名患者被认为在基线资格评估中故意表现不佳，被排除在功效分析之外。

6MWD，6分钟步行距离；ERT，酶替代疗法；FVC，用力肺活量；SD，标准偏差。

[1]van der Ploeg AT等人*N Engl J Med* [新英格兰医学杂志] 2010; 362: 1396-1406; [2]van der Ploeg AT等人*Mol Genet Metab* [分子遗传学与代谢] 2012;107:456-61; [3]Center for Drug Evaluation and Research. [药物评估和研究中心] BLA Integrated Review[BLA综合综述] 761194 Nexviazyme (艾夫糖苷酶α-Ngpt), 2021; [4]Dimachkie MM 等人*Neurology*[神经病学] 2022;99:e536—48. [5]Diaz-Manera J等人*Lancet Neurol*[柳叶刀神经病学] 2021;20:1012-26; [6]Byrne BJ等人Poster presented at Muscular Dystrophy Association (MDA) Clinical & Scientific Conference [在肌营养不良协会(MDA)临床和科学会议上展示的海报], 2022;P92.

https://www.mdaconference.org/abstract-library; [7]Schoser B等人 *Lancet Neurol* [柳叶刀神经病学] 2021;20:1027-37.

图59

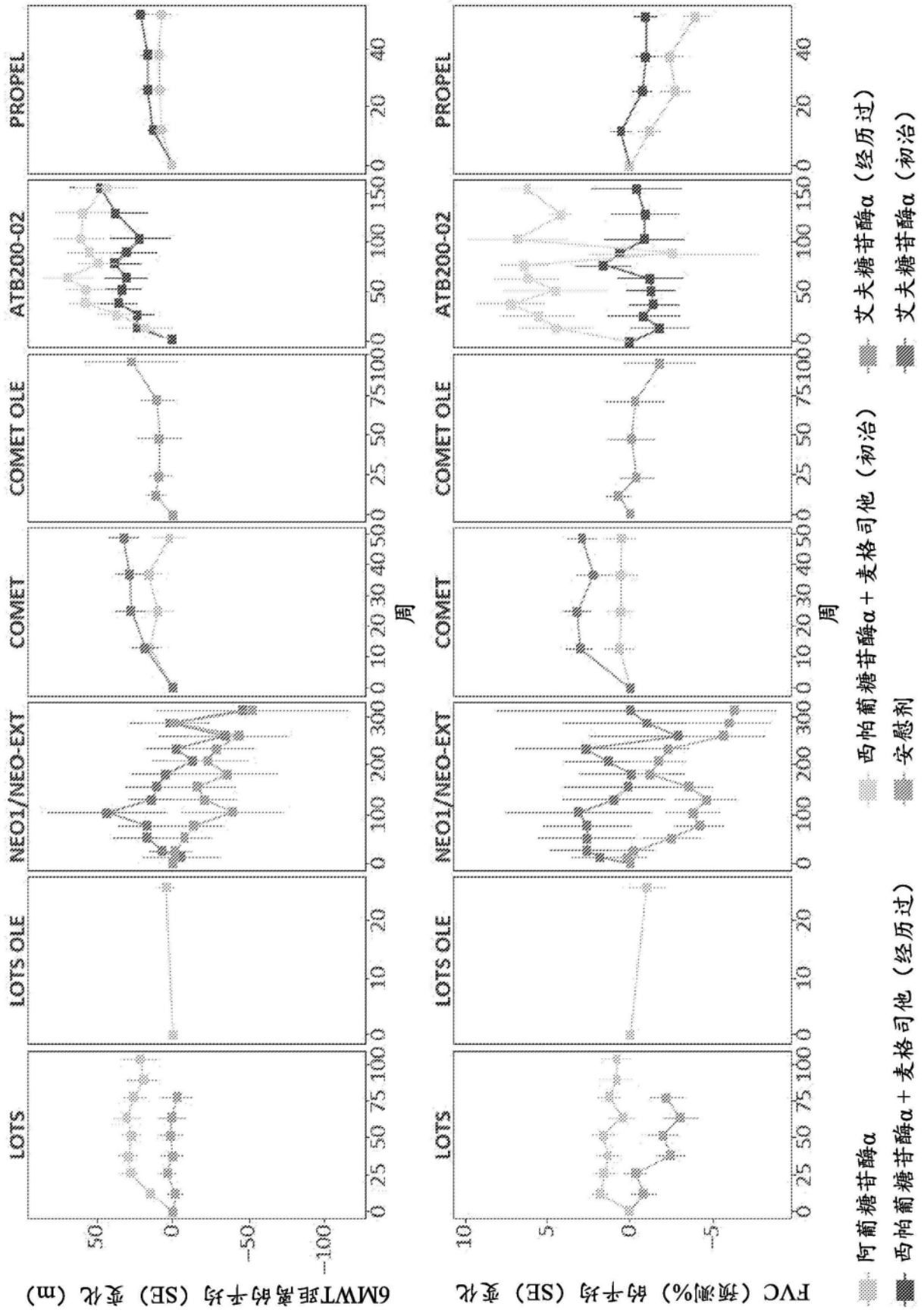

LOTS
LOTS OLE
NEO1/NEO-EXT
COMET
COMET OLE
ATB200-02
PROPEL
6MWT距离的平均（SE）变化（m）
FVC（预测%）的平均（SE）变化
周
阿葡糖苷酶α
西帕葡糖苷酶α＋麦格司他（经历过）
西帕葡糖苷酶α＋麦格司他（初治）
安慰剂
艾夫糖苷酶α（经历过）
艾夫糖苷酶α（初治）

图60

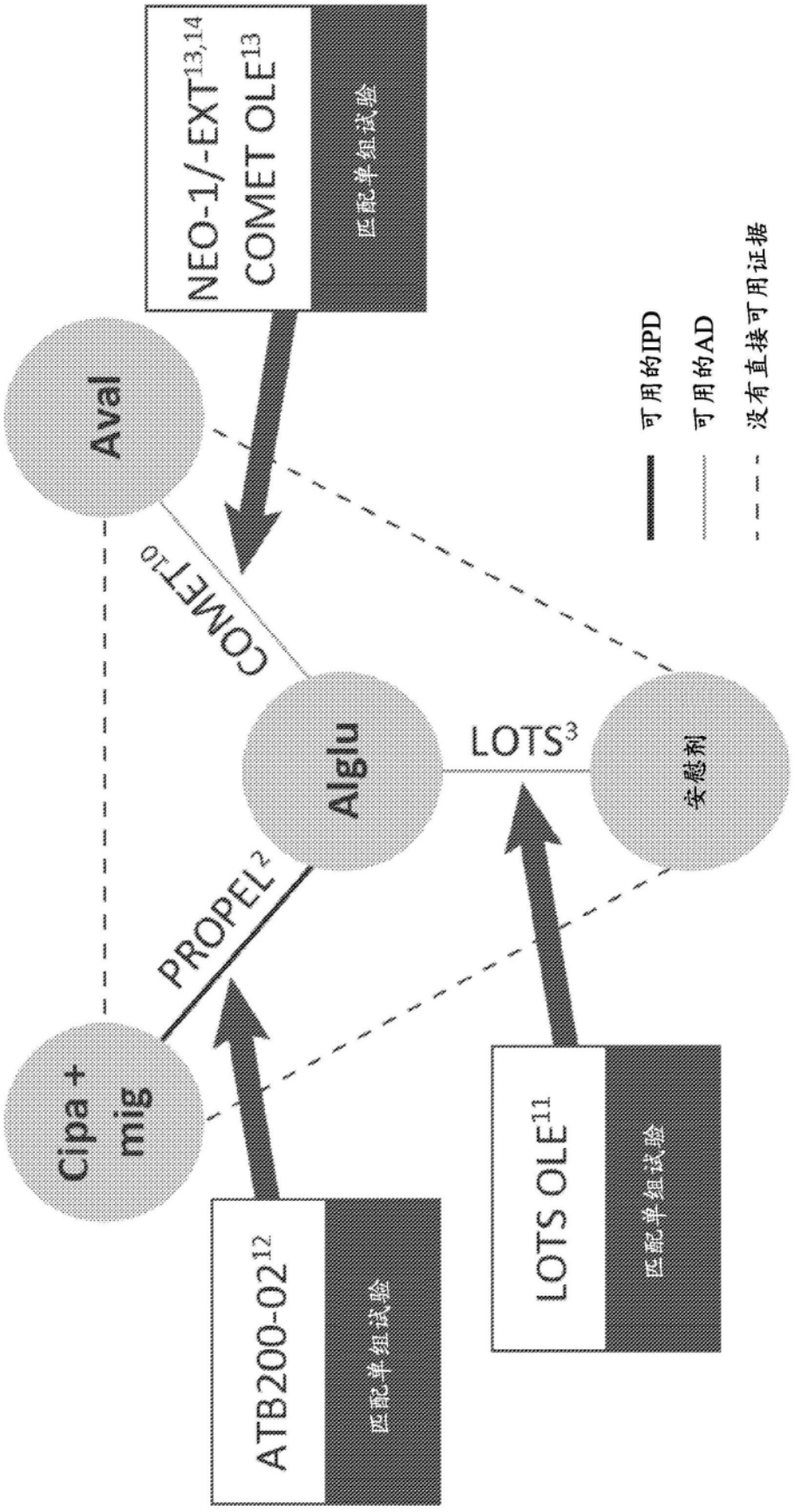

NEO-1/-EXT[13,14]
COMET OLE[13]
匹配单组试验
Aval
COMET[10]
Alglu
LOTS[3]
安慰剂
PROPEL[2]
Cipa + mig
ATB200-02[12]
匹配单组试验
LOTS OLE[11]
匹配单组试验
可用的IPD
可用的AD
没有直接可用证据

图61

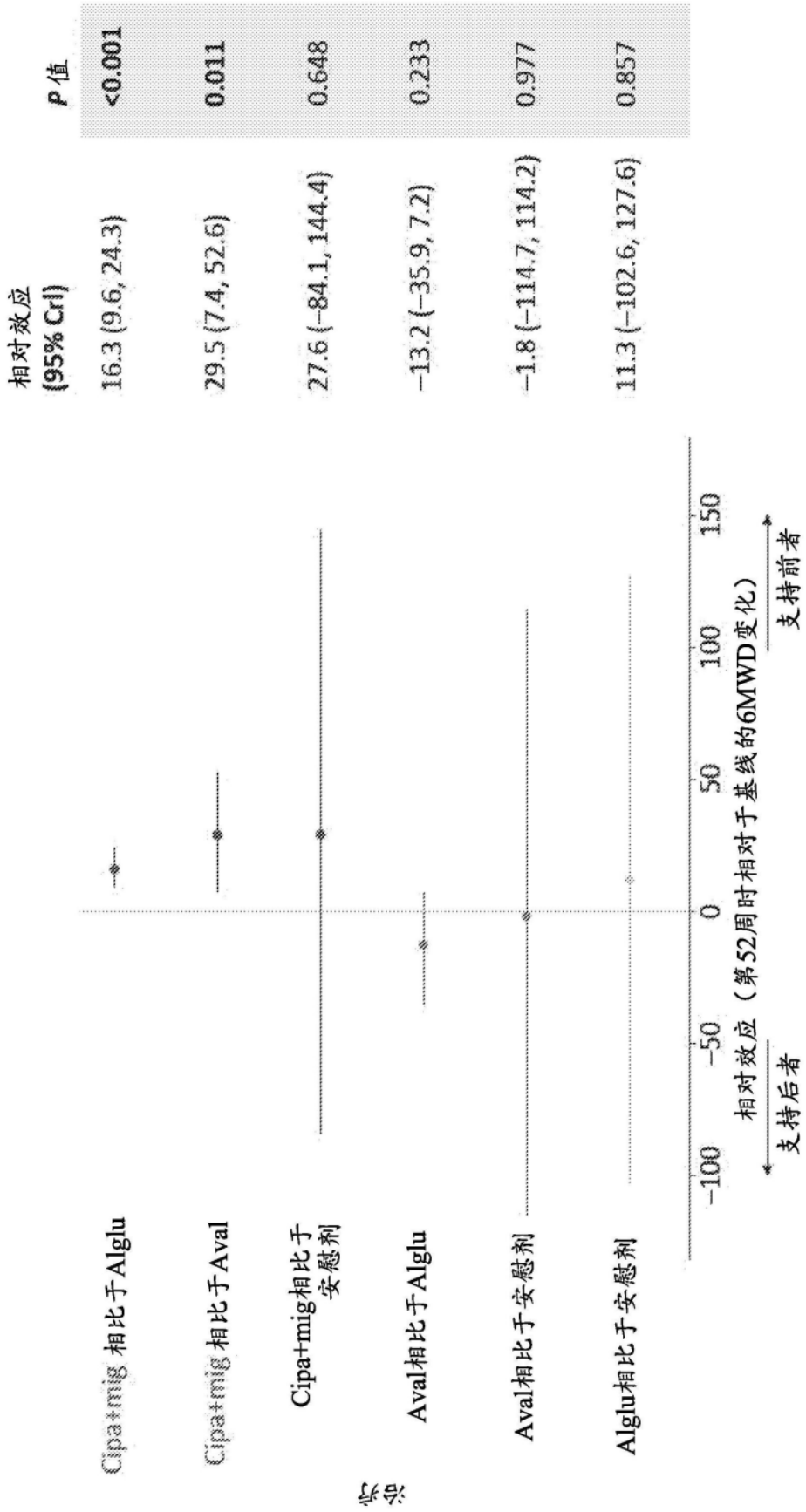

相对效应
(95% CrI)
P值
Cipa+mig 相比于Alglu
16.3 (9.6, 24.3)
<0.001
Cipa+mig 相比于Aval
29.5 (7.4, 52.6)
0.011
Cipa+mig相比于安慰剂
27.6 (−84.1, 144.4)
0.648
Aval相比于Alglu
−13.2 (−35.9, 7.2)
0.233
Aval相比于安慰剂
−1.8 (−114.7, 114.2)
0.977
Alglu相比于安慰剂
11.3 (−102.6, 127.6)
0.857
治疗
−100
−50
0
50
100
150
相对效应（第52周时相对于基线的6MWD变化）
支持后者
支持前者

图62

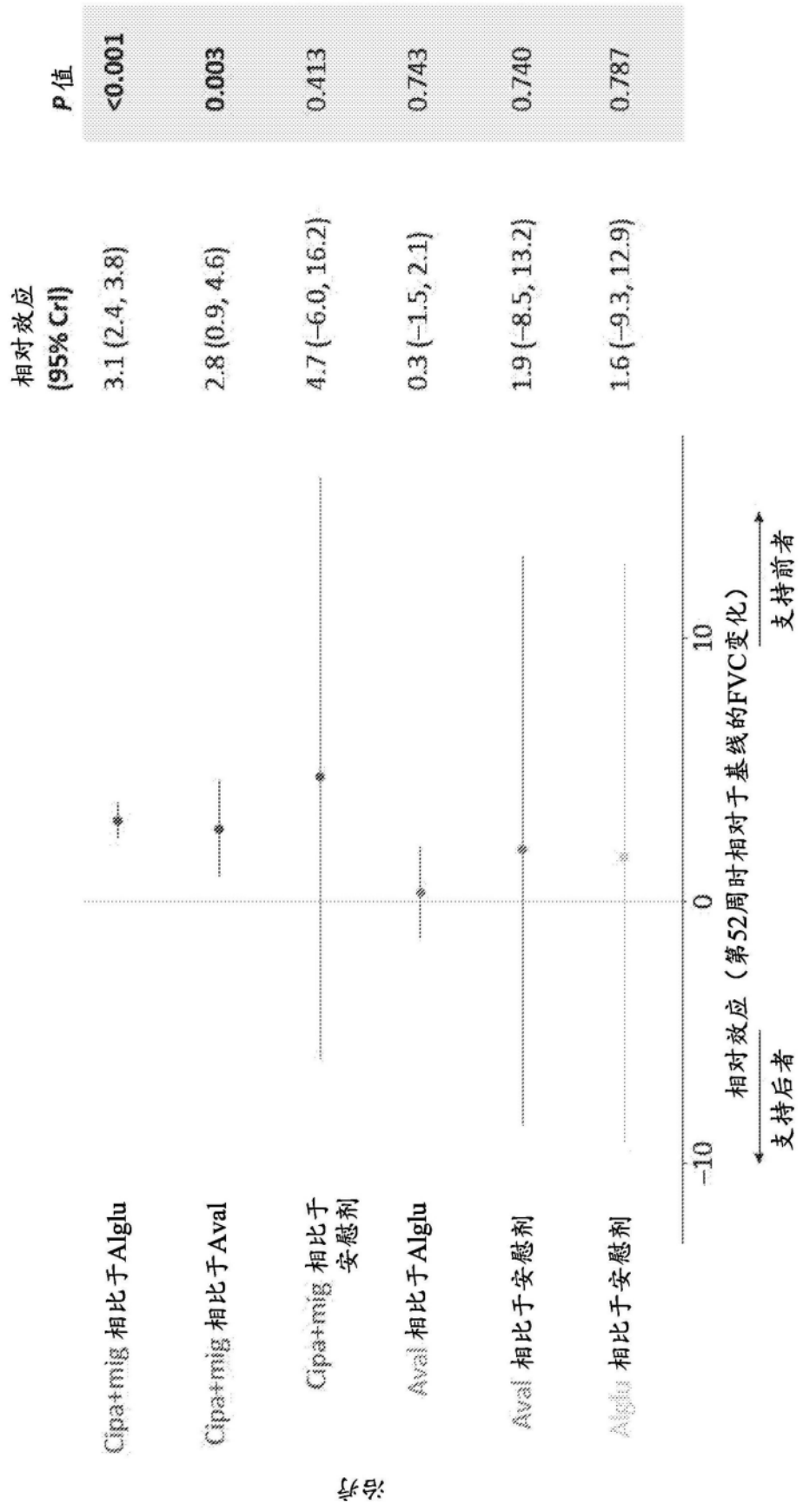

相对效应 (95% CrI)
P值
Cipa+mig 相比于Alglu
3.1 (2.4, 3.8)
<0.001
Cipa+mig 相比于Aval
2.8 (0.9, 4.6)
0.003
Cipa+mig 相比于安慰剂
4.7 (−6.0, 16.2)
0.413
Aval 相比于Alglu
0.3 (−1.5, 2.1)
0.743
Aval 相比于安慰剂
1.9 (−8.5, 13.2)
0.740
Alglu 相比于安慰剂
1.6 (−9.3, 12.9)
0.787
治疗
−10
0
10
相对效应（第52周时相对于基线的FVC变化）
支持后者
支持前者

图63

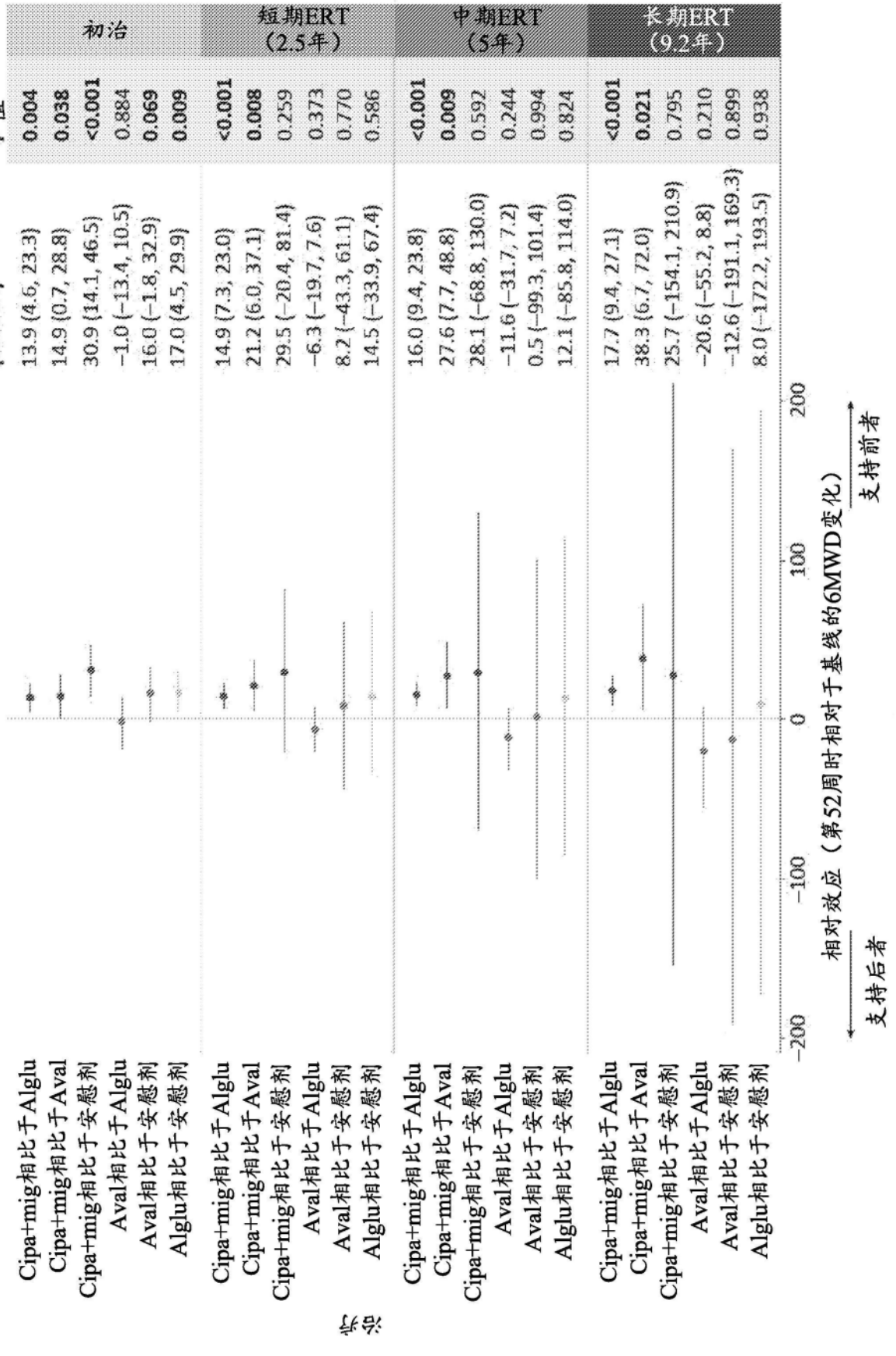

治疗
初治
短期ERT（2.5年）
中期ERT（5年）
长期ERT（9.2年）
相对效应（95% CrI）
P值
Cipa+mig相比于Alglu 13.9 (4.6, 23.3) 0.004
Cipa+mig相比于Aval 14.9 (0.7, 28.8) 0.038
Cipa+mig相比于安慰剂 30.9 (14.1, 46.5) <0.001
Aval相比于Alglu −1.0 (−13.4, 10.5) 0.884
Aval相比于安慰剂 16.0 (−1.8, 32.9) 0.069
Alglu相比于安慰剂 17.0 (4.5, 29.9) 0.009
Cipa+mig相比于Alglu 14.9 (7.3, 23.0) <0.001
Cipa+mig相比于Aval 21.2 (6.0, 37.1) 0.008
Cipa+mig相比于安慰剂 29.5 (−20.4, 81.4) 0.259
Aval相比于Alglu −6.3 (−19.7, 7.6) 0.373
Aval相比于安慰剂 8.2 (−43.3, 61.1) 0.770
Alglu相比于安慰剂 14.5 (−33.9, 67.4) 0.586
Cipa+mig相比于Alglu 16.0 (9.4, 23.8) <0.001
Cipa+mig相比于Aval 27.6 (7.7, 48.8) 0.009
Cipa+mig相比于安慰剂 28.1 (−68.8, 130.0) 0.592
Aval相比于Alglu −11.6 (−31.7, 7.2) 0.244
Aval相比于安慰剂 0.5 (−99.3, 101.4) 0.994
Alglu相比于安慰剂 12.1 (−85.8, 114.0) 0.824
Cipa+mig相比于Alglu 17.7 (9.4, 27.1) <0.001
Cipa+mig相比于Aval 38.3 (6.7, 72.0) 0.021
Cipa+mig相比于安慰剂 25.7 (−154.1, 210.9) 0.795
Aval相比于Alglu −20.6 (−55.2, 8.8) 0.210
Aval相比于安慰剂 −12.6 (−191.1, 169.3) 0.899
Alglu相比于安慰剂 8.0 (−172.2, 193.5) 0.938
−200
−100
0
100
200
相对效应（第52周时相对于基线的6MWD变化）
支持后者
支持前者

图64

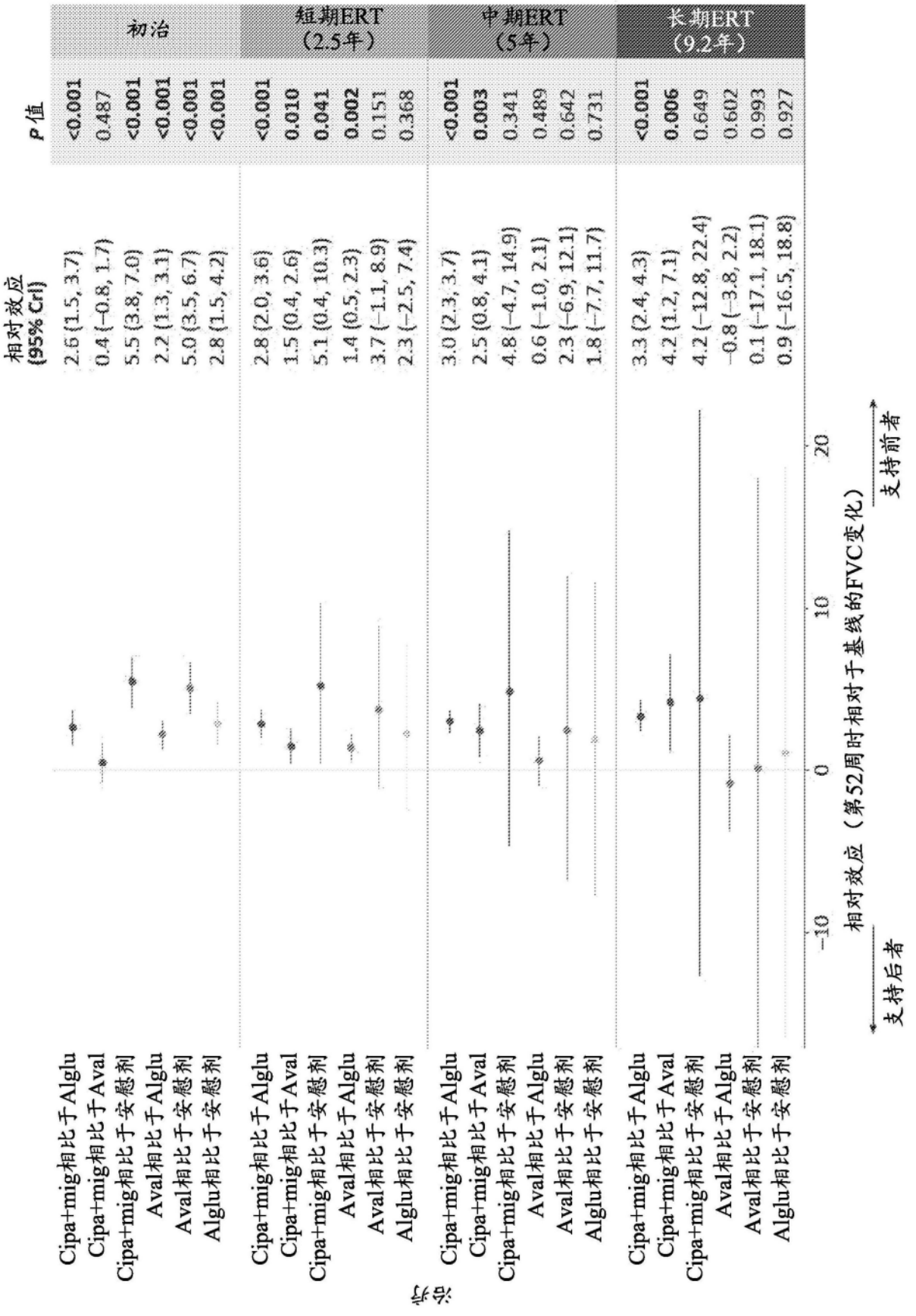

初治
短期ERT（2.5年）
中期ERT（5年）
长期ERT（9.2年）
P值
相对效应 (95% CrI)
治疗
Cipa+mig相比于Alglu
Cipa+mig相比于Aval
Cipa+mig相比于安慰剂
Aval相比于Alglu
Aval相比于安慰剂
Alglu相比于安慰剂
<0.001
0.487
<0.001
<0.001
<0.001
<0.001
2.6 (1.5, 3.7)
0.4 (−0.8, 1.7)
5.5 (3.8, 7.0)
2.2 (1.3, 3.1)
5.0 (3.5, 6.7)
2.8 (1.5, 4.2)
<0.001
0.010
0.041
0.002
0.151
0.368
2.8 (2.0, 3.6)
1.5 (0.4, 2.6)
5.1 (0.4, 10.3)
1.4 (0.5, 2.3)
3.7 (−1.1, 8.9)
2.3 (−2.5, 7.4)
<0.001
0.003
0.341
0.489
0.642
0.731
3.0 (2.3, 3.7)
2.5 (0.8, 4.1)
4.8 (−4.7, 14.9)
0.6 (−1.0, 2.1)
2.3 (−6.9, 12.1)
1.8 (−7.7, 11.7)
<0.001
0.006
0.649
0.602
0.993
0.927
3.3 (2.4, 4.3)
4.2 (1.2, 7.1)
4.2 (−12.8, 22.4)
−0.8 (−3.8, 2.2)
0.1 (−17.1, 18.1)
0.9 (−16.5, 18.8)
−10
0
10
20
相对效应（第52周时相对于基线的FVC变化）
支持后者
支持前者

图65

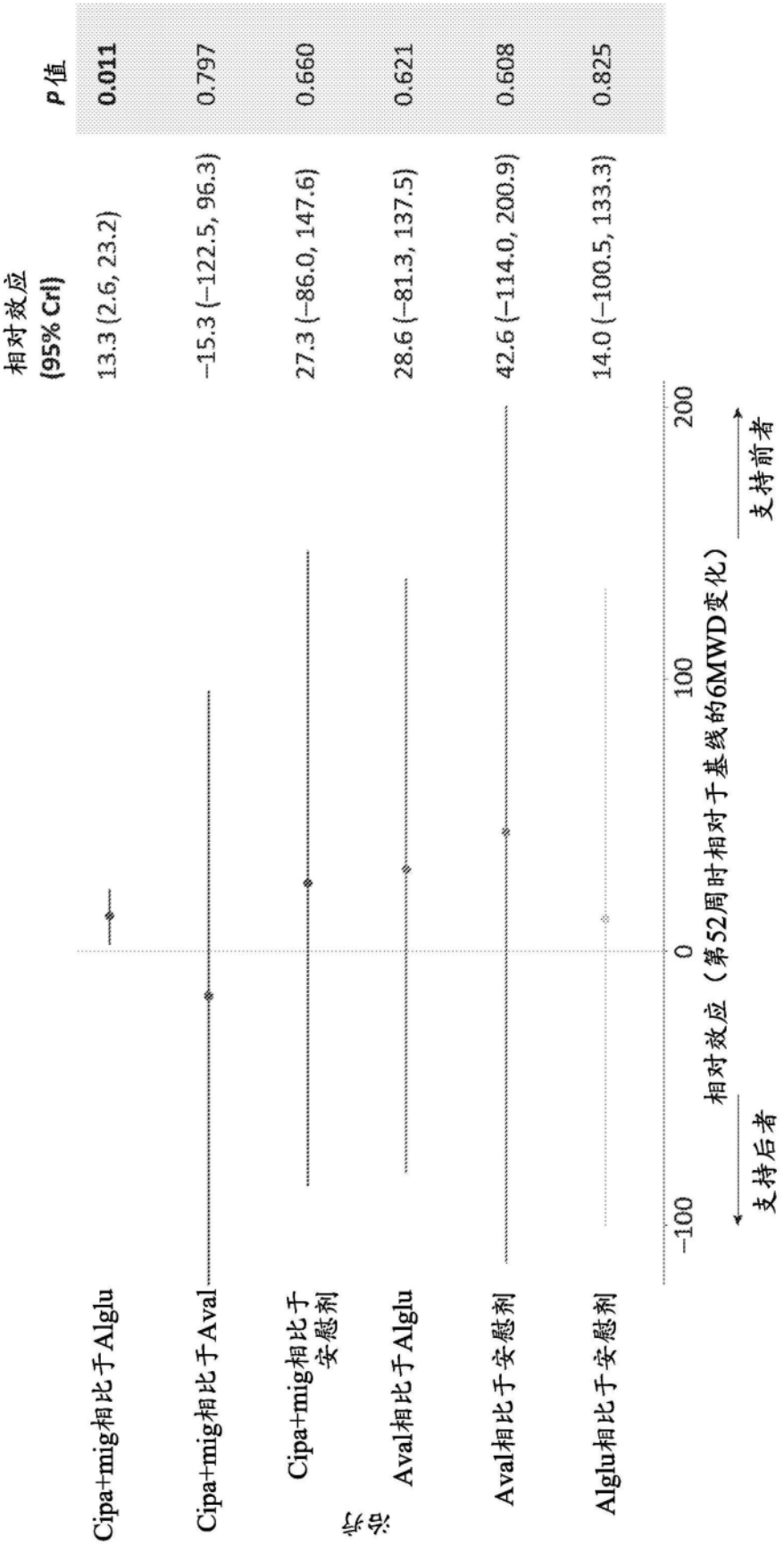

相对效应
(95% CrI)
P值
Cipa+mig相比于Alglu
13.3 (2.6, 23.2)
0.011
Cipa+mig相比于Aval
−15.3 (−122.5, 96.3)
0.797
Cipa+mig相比于安慰剂
27.3 (−86.0, 147.6)
0.660
Aval相比于Alglu
28.6 (−81.3, 137.5)
0.621
Aval相比于安慰剂
42.6 (−114.0, 200.9)
0.608
Alglu相比于安慰剂
14.0 (−100.5, 133.3)
0.825
治疗
−100
0
100
200
相对效应（第52周时相对于基线的6MWD变化）
支持后者
支持前者

图66

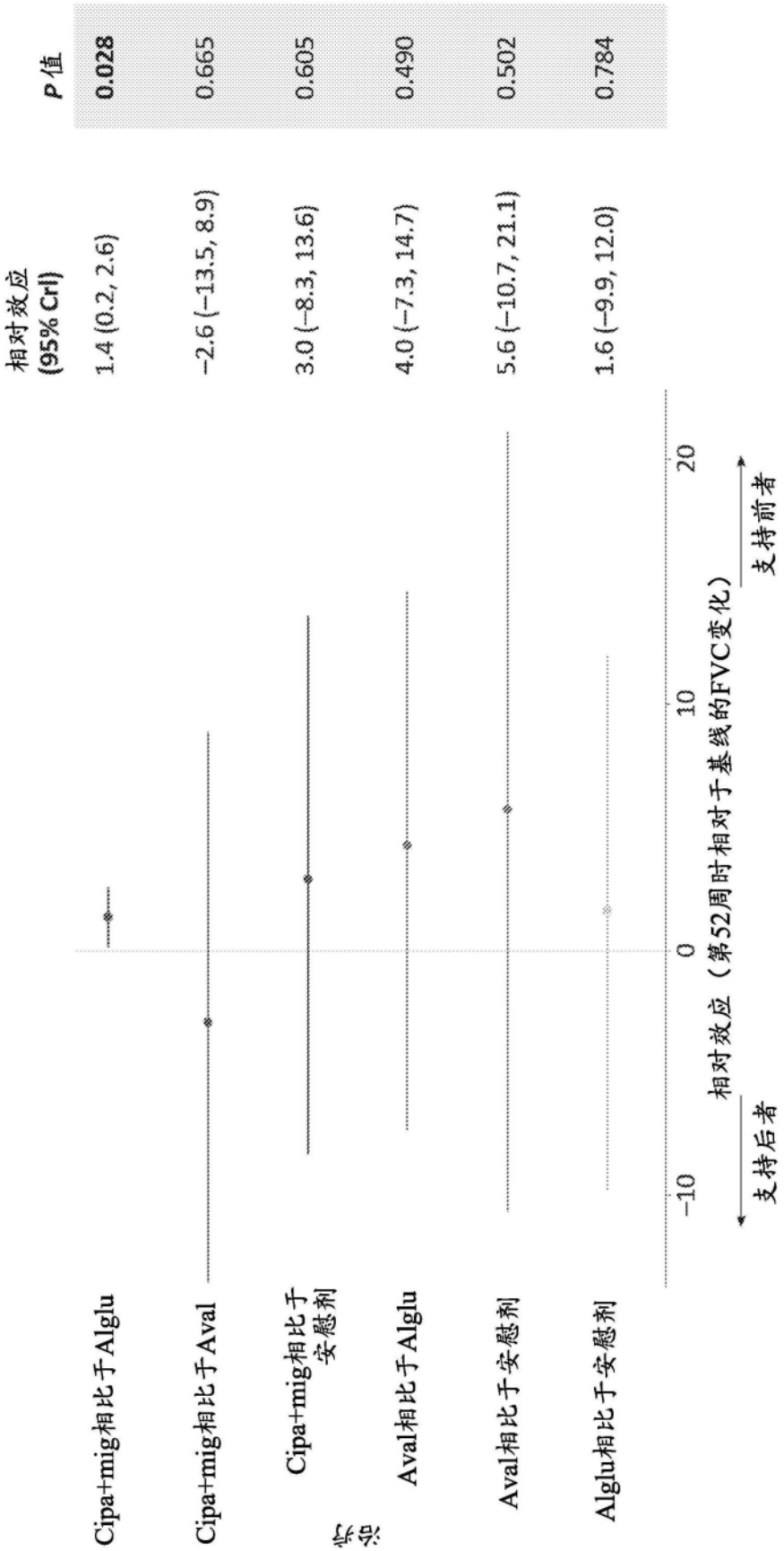
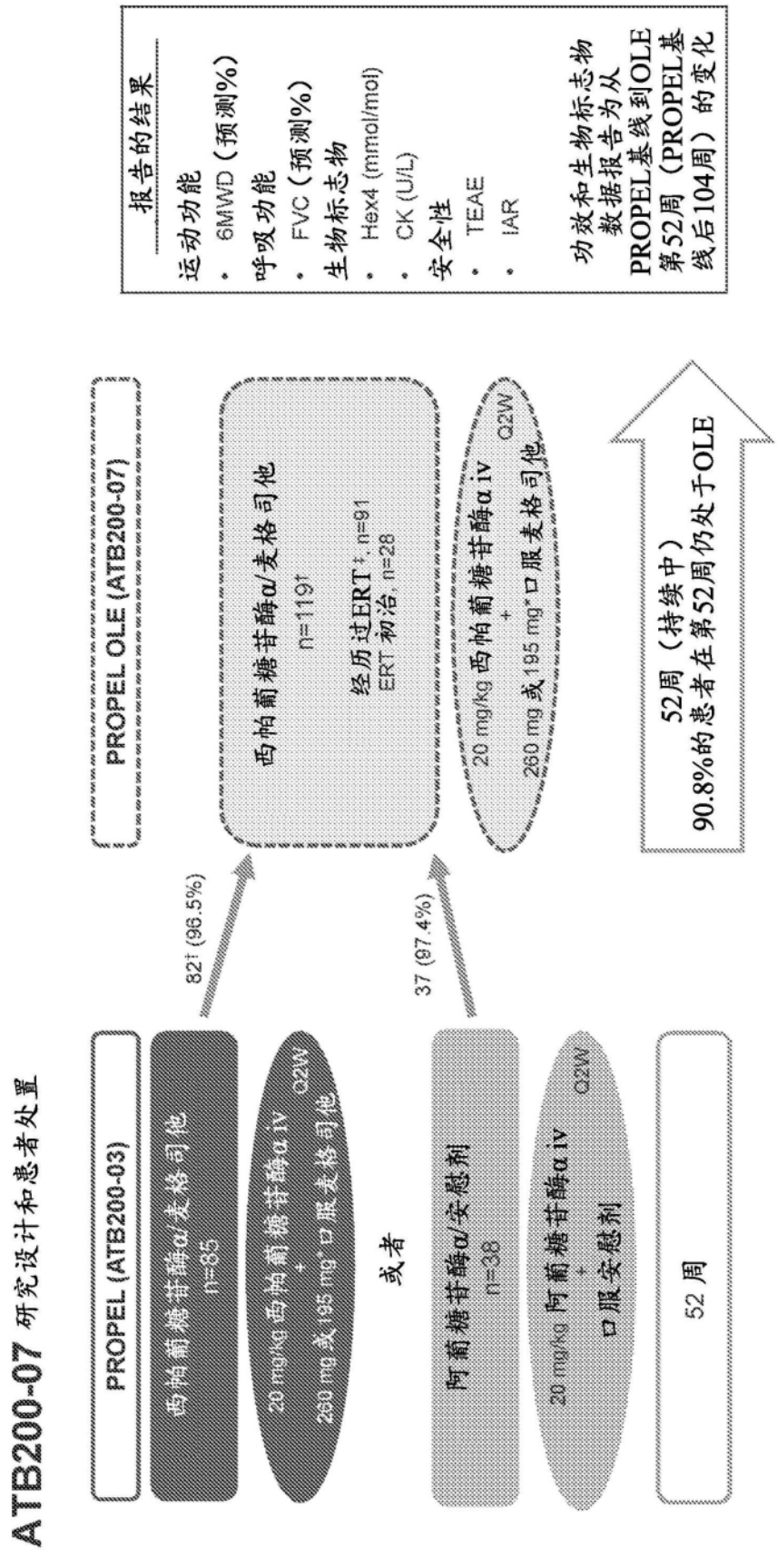

相对效应 (95% CrI)
P值
Cipa+mig相比于Alglu
1.4 (0.2, 2.6)
0.028
Cipa+mig相比于Aval
−2.6 (−13.5, 8.9)
0.665
Cipa+mig相比于安慰剂
3.0 (−8.3, 13.6)
0.605
Aval相比于Alglu
4.0 (−7.3, 14.7)
0.490
Aval相比于安慰剂
5.6 (−10.7, 21.1)
0.502
Alglu相比于安慰剂
1.6 (−9.9, 12.0)
0.784
治疗
−10
0
10
20
相对效应（第52周时相对于基线的FVC变化）
支持后者
支持前者

图67



*体重 ≥ 50 kg的患者服用260 mg 麦格司他，体重 ≥ 40 kg至 < 50 kg的患者服用195 mg；†包括1名参加ATB200-07但从未接受给药的患者；‡经历过ERT的患者定义为在参加PROPEL研究之前接受ERT（阿葡糖苷酶α）治疗的患者。6MWD，6分钟步行距离；CK，肌酸激酶；FVC，用力肺活量；Hex4，己糖四糖；IAR，输注相关反应；iv，静脉内；OLE，开放标签扩展；Q2W，每两周；TEAE，治疗中出现的不良事件。

图68

OLE中的患者基线特征

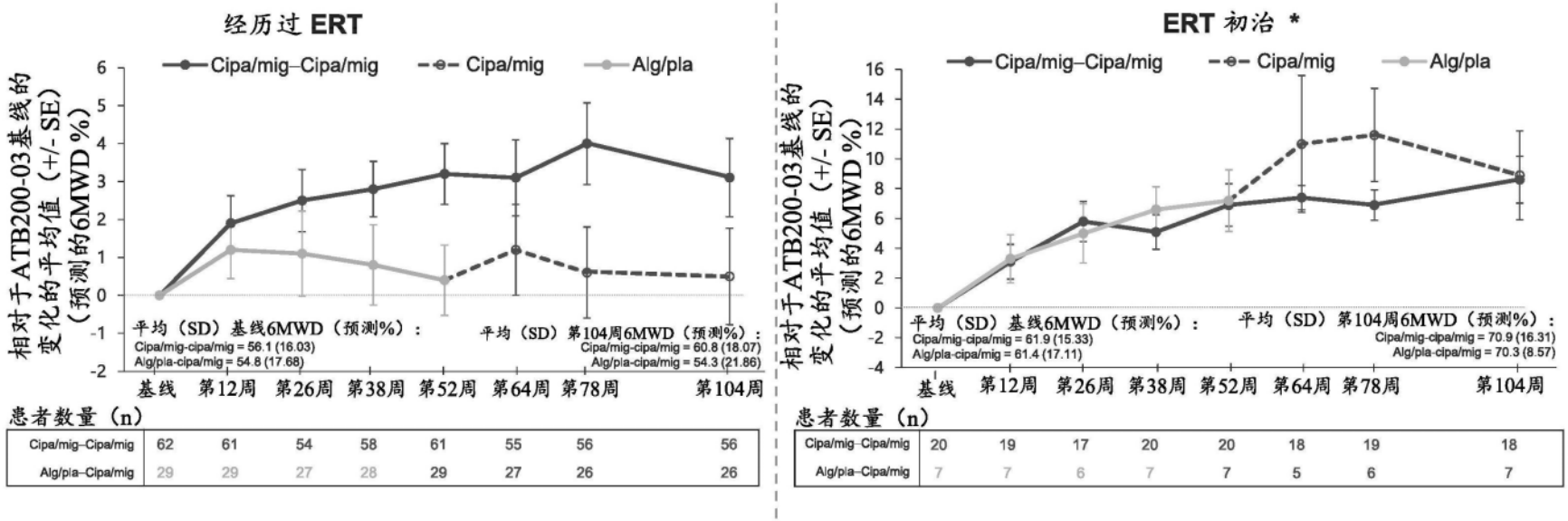
	Cipa/mig-cipa/mig n=81*	Alglu-alglu/mig n=57
中位年龄（范围），岁	49 (20–75)	47 (23–67)
男性患者，n（%）	34 (41.5)	19 (51.4)
经历过ERT，n（%）	61 (75.3)	29 (78.4)
中位（Q1-Q3）ERT持续时间，年	7.6 (4.3–10.2)	7.10 (3.8–10.4)

* 由于PROPEL中只有4名患者没有继续进入OLE，因此OLE中的患者代表了PROPEL中所有随机化患者

*排除1名参加ATB200-07但未接受治疗的参与者。Alg/pla，阿葡糖苷酶α/安慰剂；cipa/mig，西帕葡糖苷酶α/麦格司他。

图69

对于经历过ERT的患者和ERT初治患者，预测的6MWD %相对于PROPEL基线的改善在整个OLE期间维持



- 在整个过程中接受cipa/mig治疗的经历过ERT的患者和ERT初治患者在PROPEL的预测6MWD %方面表现出持久的改善，这种改善在整个OLE期间维持一直到第104周
- 在PROPEL中接受alg/pla并在OLE中转换为cipa/mig的经历过ERT的患者和ERT初治患者在整个OLE期间显示出预测6MWD %的稳定性

*不包括1个离群值。SE，标准误差。

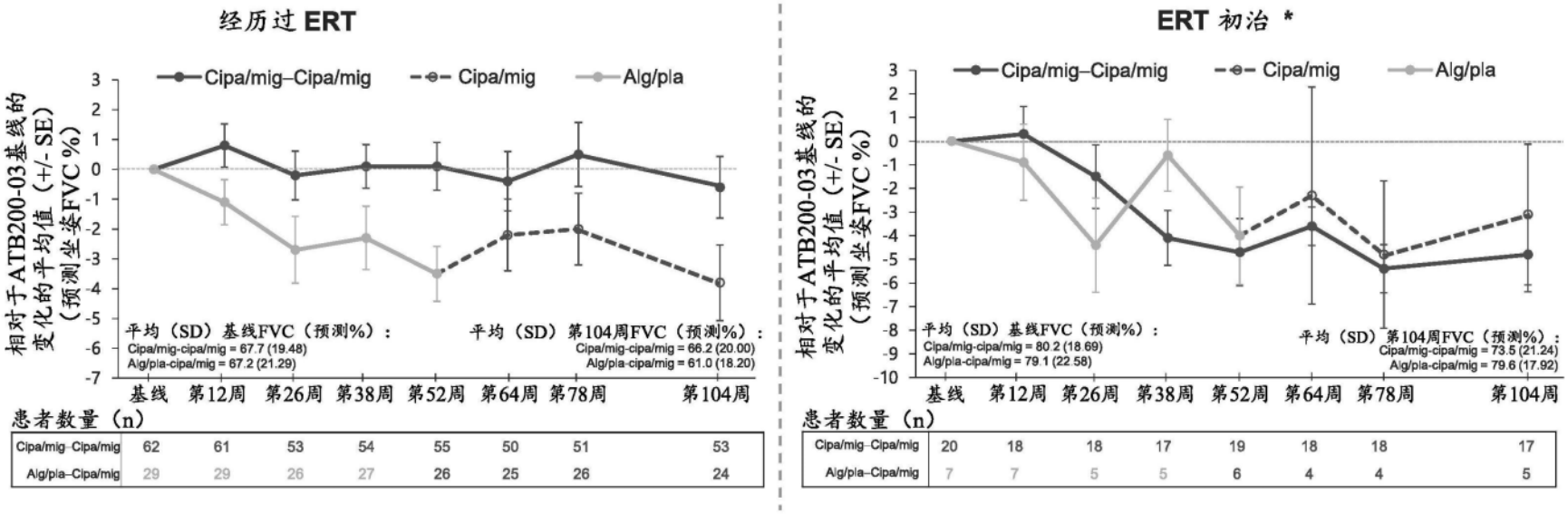
图70A

	经历过ERT				ERT初治*			
	西帕葡糖苷酶α/麦格司他		阿葡糖苷酶α/安慰剂		西帕葡糖苷酶α/麦格司他		阿葡糖苷酶α/安慰剂	
	n	平均值(SD)	n	平均值(SD)	n	平均值(SD)	n	平均值(SD)
6MWD, m								
基线	62	342.4 (100.40)	29	335.0 (116.03)	20	393.6 (112.39)	7	420.9 (135.75)
第104周	56	367.1 (129.11)	26	330.5 (142.54)	18	428.0 (107.74)	7	469.3 (106.30)
6MWD的相对于ATB200-03基线的变化，m								
第12周	61	10.9 (23.18)	29	5.3 (21.68)	19	17.1 (20.97)	7	20.5 (22.12)
第26周	55	12.9 (30.64)	27	5.6 (26.60)	17	32.2 (36.75)	6	30.3 (17.94)
第38周	58	13.3 (32.82)	28	4.0 (28.90)	20	25.2 (46.25)	7	38.5 (19.46)
第52周	61	16.3 (39.46)	29	0.7 (39.84)	20	33.4 (48.70)	7	36.3 (29.32)
第64周	55	14.2 (43.27)	27	5.7 (49.81)	18	35.5 (47.65)	5	63.3 (49.66)
第78周	56	19.8 (53.17)	26	0.8 (44.88)	19	31.8 (47.83)	6	65.2 (49.47)
第104周	56	14.2 (53.44)	26	-8.8 (46.19)	18	38.8 (51.03)	7	48.3 (70.56)

*不包括一个离群值。6MWD，步行6分钟距离；SD，标准偏差。

图70B

在整个OLE期间，经历过ERT的患者和ERT初治患者的预测坐姿FVC %保持稳定



- 在整个过程中接受cipa/mig治疗的经历过ERT的患者始终保持稳定，而在PROPEL中接受alg/pla治疗的患者出现预测坐姿FVC %衰退，在OLE中转换为cipa/mig后稳定
- 在PROPEL中两个治疗组中ERT初治患者均出现一定程度的衰退，并在OLE中稳定至第104周

*不包括1个离群值。

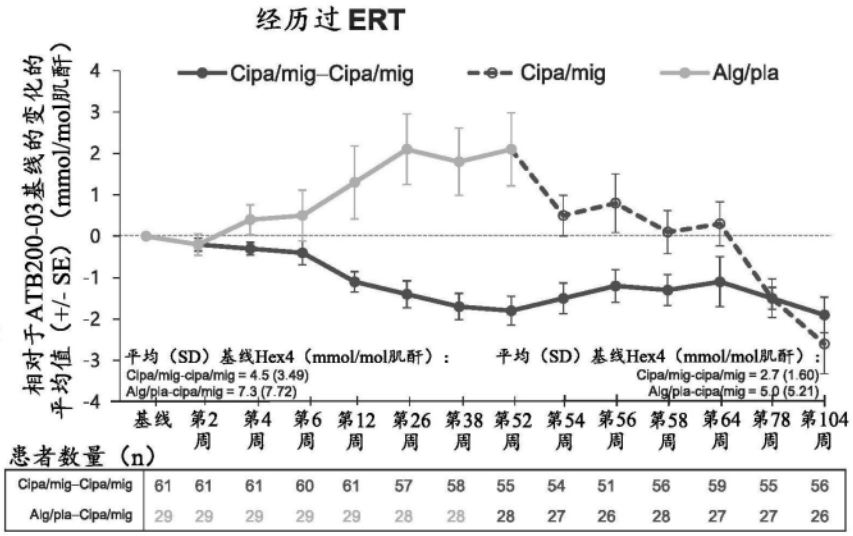
图71

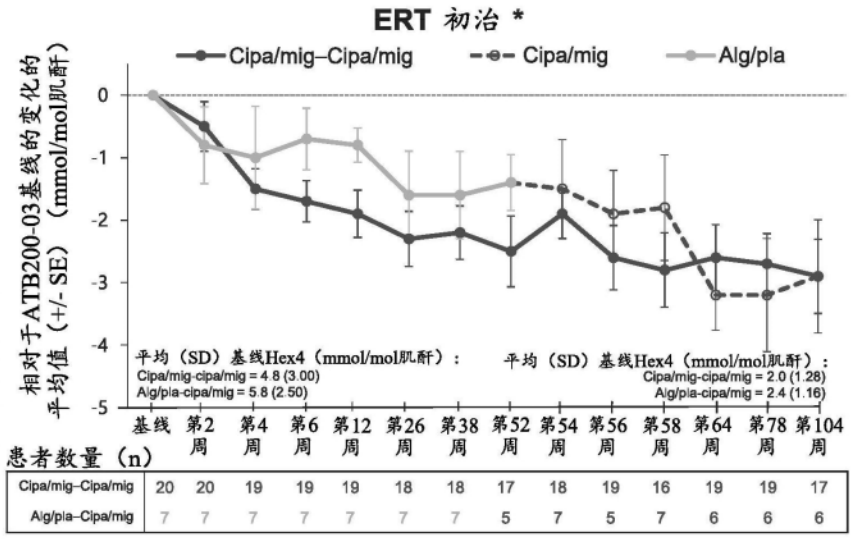
- 在整个过程中接受cipa/mig治疗的经历过ERT的患者和ERT初治患者在PROPEL期间血清CK水平衰退，并且在整个OLE期间保持不变
- 在PROPEL中接受alg/pla的经历过ERT的患者和ERT初治患者到第52周时血清CK水平略有升高或稳定，而在OLE中转换为cipa/mig后显著衰退

*不包括1个离群值。

图72

在经历过ERT的患者和ERT初治患者中，Cipa/mig治疗与PROPEL和OLE期间尿Hex4的持久降低相关





- 在PROPEL中在整个过程中接受cipa/mig治疗的经历过ERT的患者的尿Hex4水平衰退，并在OLE期间稳定。在PROPEL中接受alg/pla的患者的Hex4增加，而在OLE中转换为cipa/mig后则显著衰退

- 两个治疗组的PROPEL期间，ERT初治患者的Hex4水平衰退，并在OLE期间至第104周稳定或进一步衰退

*不包括1个离群值。

图73

安全性总结

	Cipa/mig-cipa/mig n=85*	Algor-cipa/mig n=371
TEAE，n (%)	84 (98.8)	36 (97.3)
可能与治疗相关的TEAE	37 (43.5)	15 (40.5)
严重的TEAE	14 (16.5)	6 (16.2)
可能与治疗相关的严重的TEAE‡	1 (1.2)	2 (5.4)
导致OLE期间退出研究的TEAE	1 (1.2)§	2 (5.4)‖
导致死亡的TEAE	0 (0)	0 (0)
IAR	27 (31.8)	10 (27.0)

- 大多数TEAE的严重程度为轻度或中度
- 最常见的TEAE包括摔倒、头痛、关节痛、鼻咽炎、肌痛和背痛
- 三名患者因OLE期间经历的TEAE退出研究
- OLE期间没有发现新的安全性信号

*包括来自PROPEL中接受cipa/mig治疗的患者的数据，这些患者可能会或可能不会在OLE中继续cipa/mig，包括来自PROPEL和OLE的数据；†仅包括来自OLE的数据；‡与治疗的相关性由研究者确定；§荨麻疹；‖荨麻疹、低血压和过敏反应。

图74

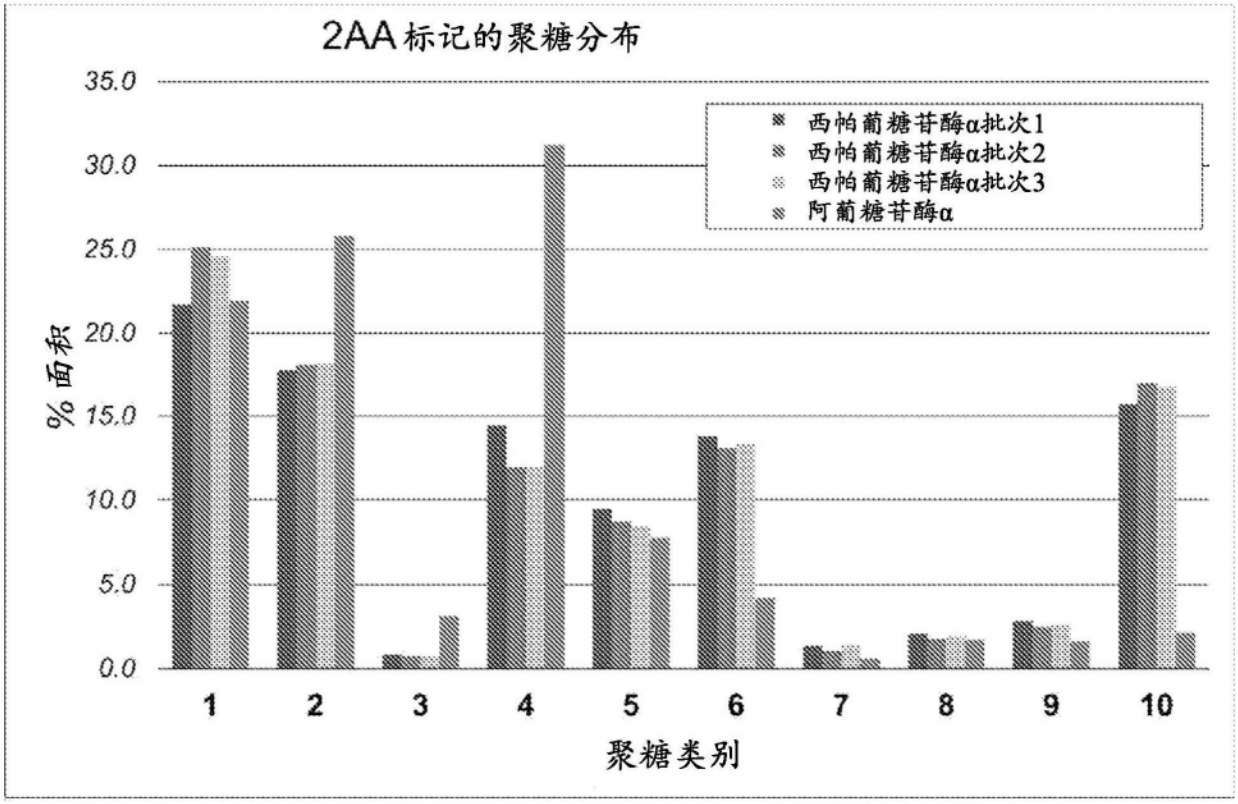

2AA标记的聚糖分布
35.0
30.0
25.0
20.0
15.0
10.0
5.0
0.0
% 面积
西帕葡糖苷酶α批次1
西帕葡糖苷酶α批次2
西帕葡糖苷酶α批次3
阿葡糖苷酶α
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
聚糖类别

图75

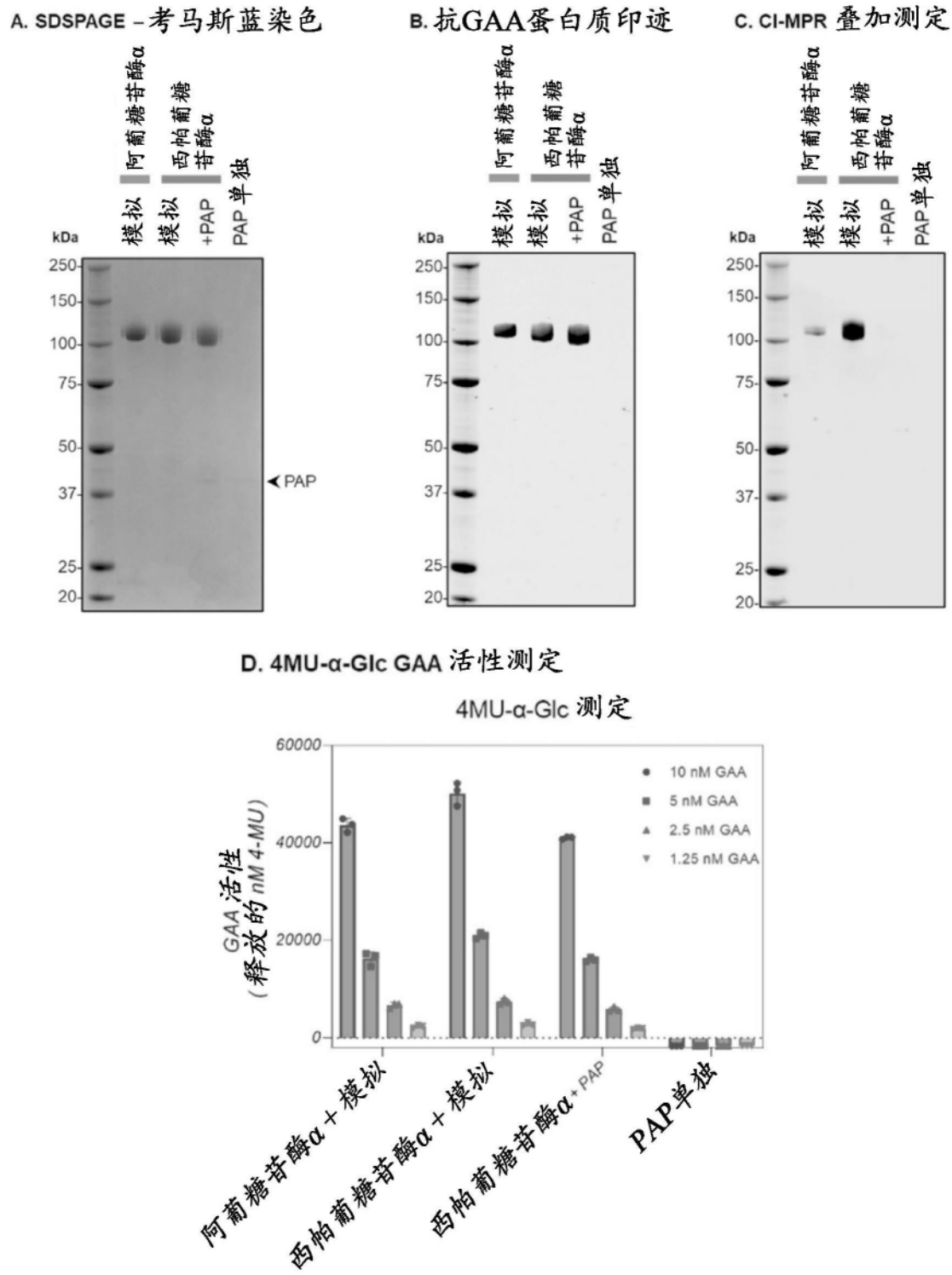

A. SDSPAGE –考马斯蓝染色
B. 抗GAA蛋白质印迹
C. CI-MPR 叠加测定
阿葡糖苷酶α
西帕葡糖苷酶α
模拟
模拟
+PAP
PAP 单独
kDa
250
150
100
75
50
37
25
20
PAP
D. 4MU-α-Glc GAA 活性测定
4MU-α-Glc 测定
GAA 活性
(释放的 nM 4-MU)
60000
40000
20000
0
10 nM GAA
5 nM GAA
2.5 nM GAA
1.25 nM GAA
阿葡糖苷酶α + 模拟
西帕葡糖苷酶α + 模拟
西帕葡糖苷酶α + PAP
PAP单独

图76

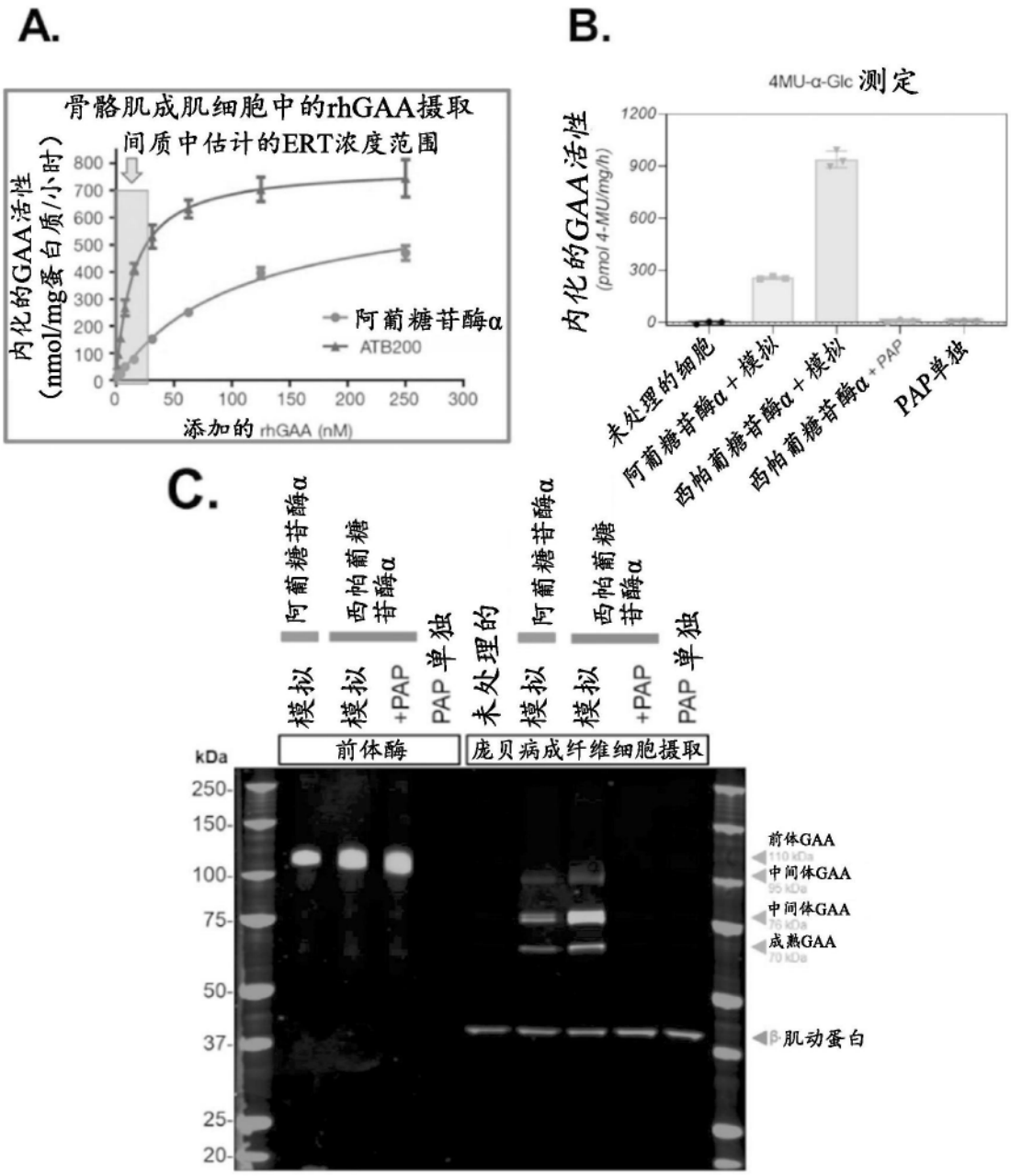

A.
骨骼肌成肌细胞中的rhGAA摄取
间质中估计的ERT浓度范围
内化的GAA活性
(nmol/mg蛋白质/小时)
阿葡糖苷酶α
ATB200
添加的 rhGAA (nM)
B.
4MU-α-Glc 测定
内化的GAA活性
(pmol 4-MU/mg/h)
未处理的细胞
阿葡糖苷酶α + 模拟
西帕葡糖苷酶α + 模拟
西帕葡糖苷酶α + PAP
PAP单独
C.
阿葡糖苷酶α
西帕葡糖苷酶α
模拟
模拟
+PAP
PAP 单独
未处理的
模拟
模拟
+PAP
PAP 单独
前体酶
庞贝病成纤维细胞摄取
kDa
250
150
100
75
50
37
25
20
前体GAA
110 kDa
中间体GAA
95 kDa
中间体GAA
76 kDa
成熟GAA
70 kDa
β-肌动蛋白

图77

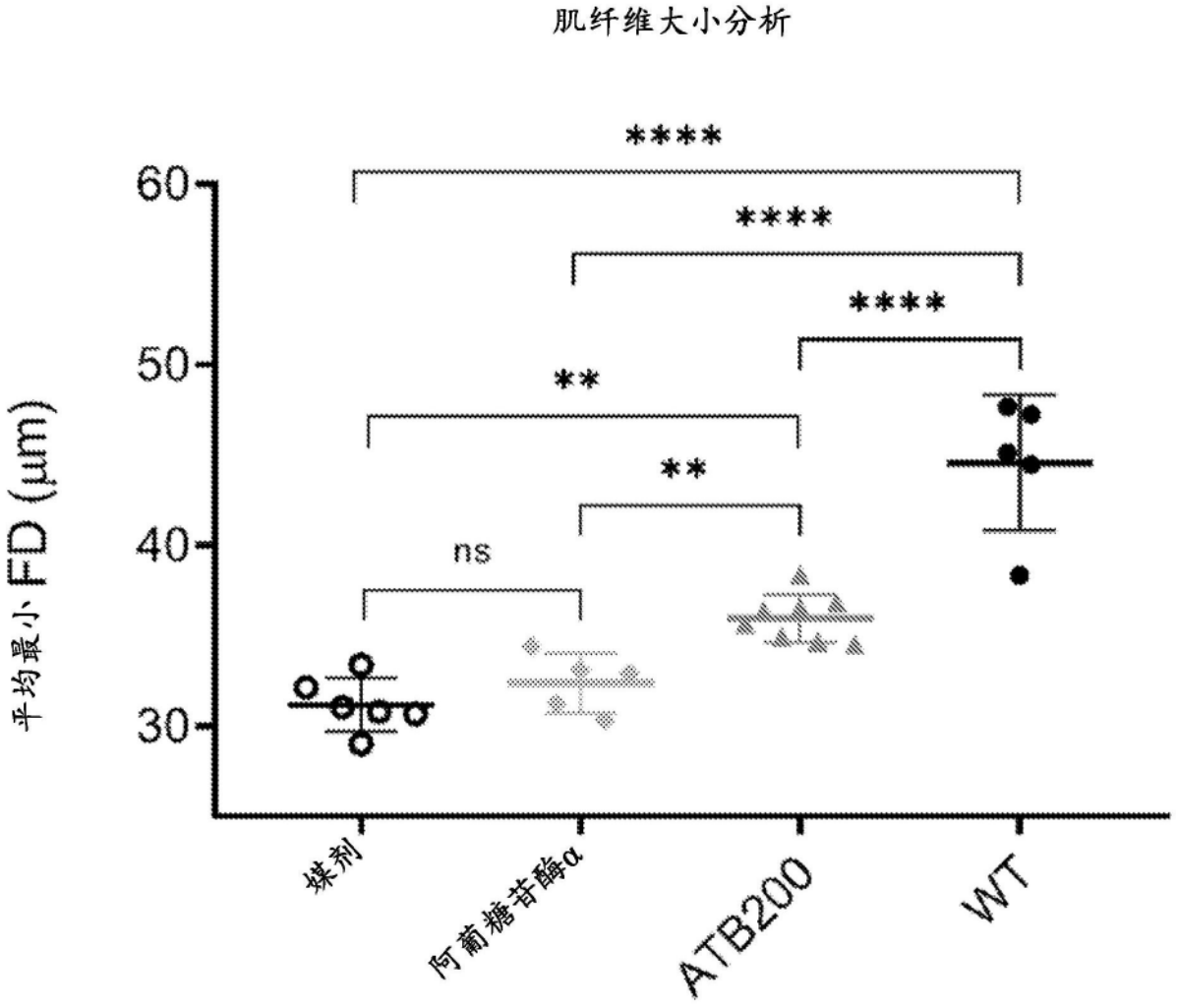
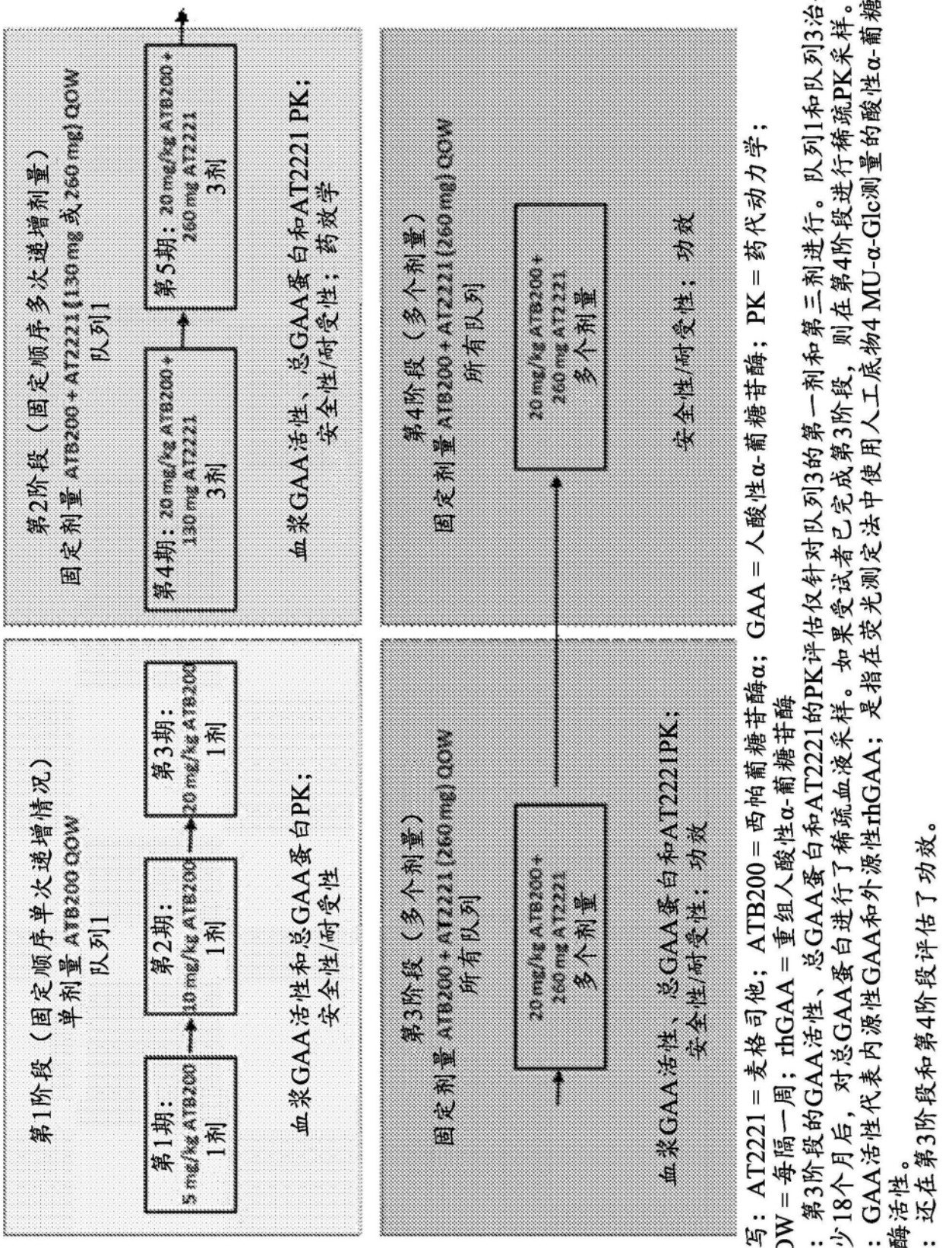


图78



缩写：AT2221 = 麦格司他；ATB200 = 西帕葡糖苷酶α；GAA = 人酸性α-葡糖苷酶；PK = 药代动力学；QOW = 每隔一周；rhGAA = 重组人酸性α-葡糖苷酶

注：第3阶段的GAA活性、总GAA蛋白和AT2221的PK评估仅针对队列3的第一剂和第三剂进行。队列1和队列3治疗至少18个月后，对总GAA蛋白进行了稀疏血液采样。如果受试者已完成第3阶段，则在第4阶段进行稀疏PK采样。

注：GAA活性代表内源性GAA和外源性rhGAA；是指在荧光测定法中使用人工底物4 MU-α-Glc测量的酸性α-葡糖苷酶活性。

注：还在第3阶段和第4阶段评估了功效。

图79

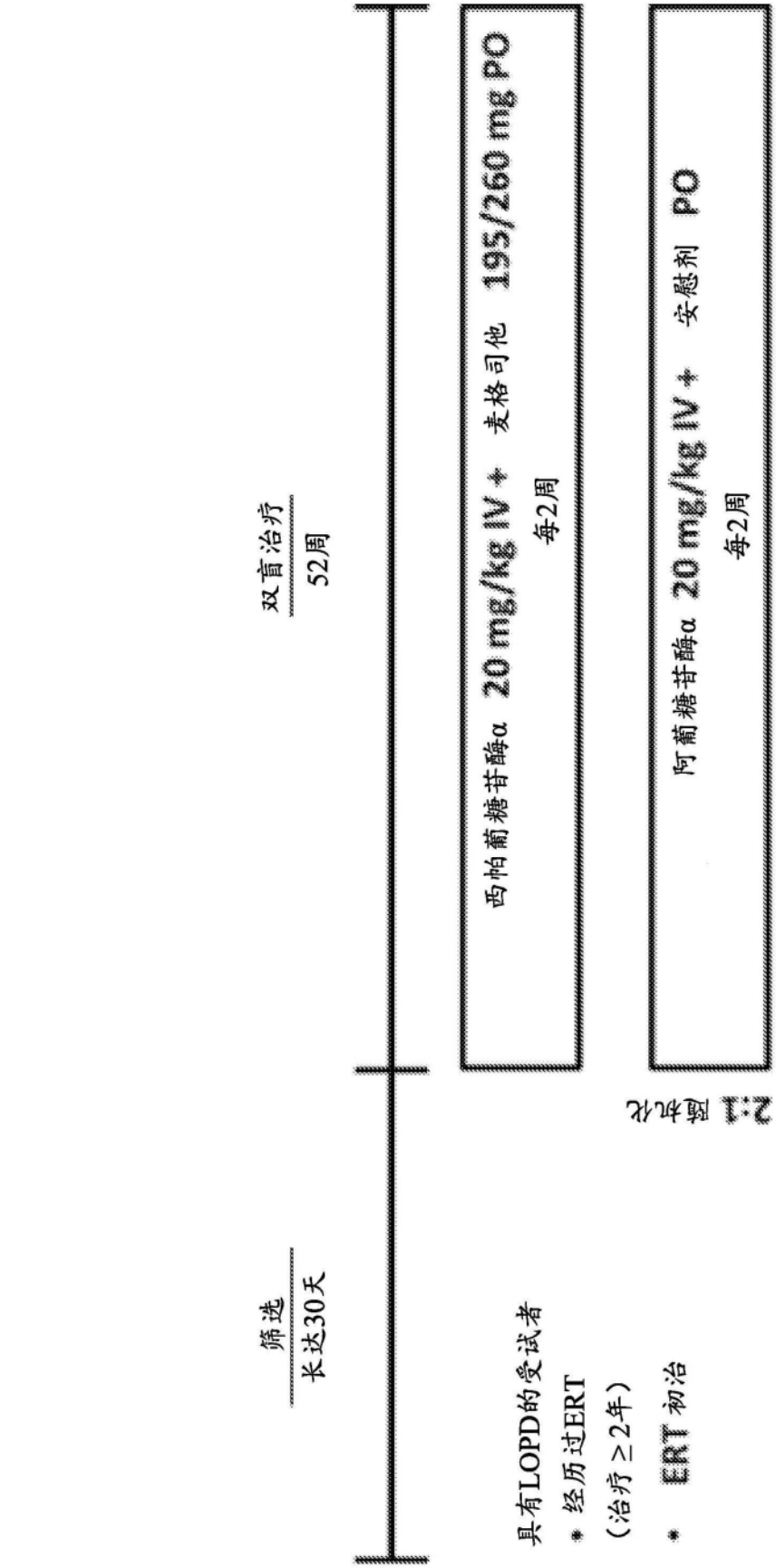

筛选
长达30天
双盲治疗
52周
具有LOPD的受试者
• 经历过ERT
（治疗≥2年）
• ERT初治
2:1
西帕葡糖苷酶α 20 mg/kg IV + 麦格司他 195/260 mg PO
每2周
阿葡糖苷酶α 20 mg/kg IV + 安慰剂 PO
每2周
缩写：ERT = 酶替代疗法；IV = 静脉内（地）；LOPD = 迟发性庞贝病；PO = 口服

图80

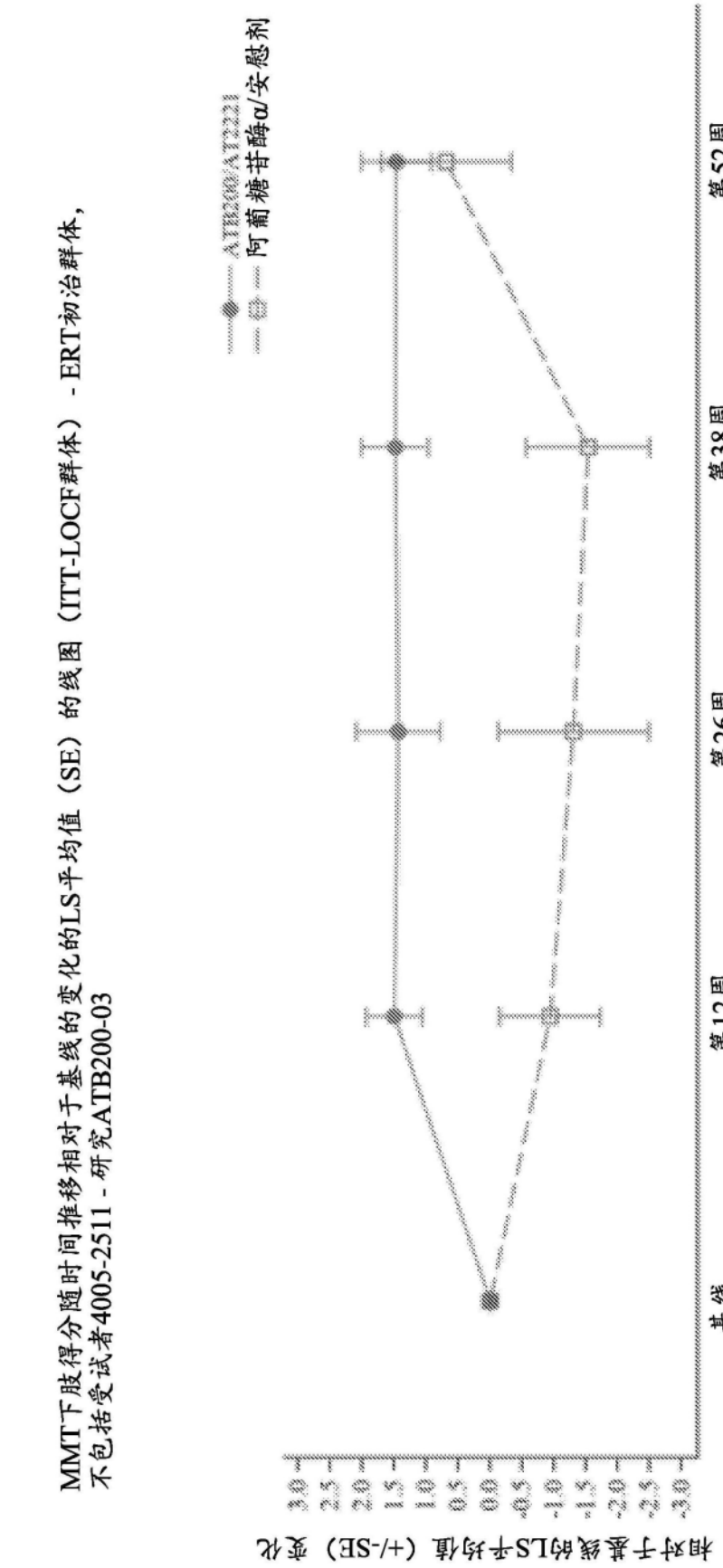

MMT下肢得分随时间推移相对于基线的变化的LS平均值（SE）的线图（ITT-LOCF群体）- ERT初治群体，
不包括受试者4005-2511 - 研究ATB200-03
ATB200/AT2221
阿葡糖苷酶α/安慰剂
相对于基线的LS平均值（+/-SE）变化
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-0.5
-1.0
-1.5
-2.0
-2.5
-3.0
基线
第12周
第26周
第38周
第52周
就诊
缩写：ANCOVA = 协方差分析；AT2221 = 麦格司他；ATB200 = 西帕葡糖苷酶α；ERT = 酶替代疗法；ITT = 意向治疗；
LOCF = 末次观察推进法；LS = 最小二乘法；MMT = 徒手肌力测试；SE = 标准误差
注：LS平均值和SE是从ANCOVA模型获得的。

图81

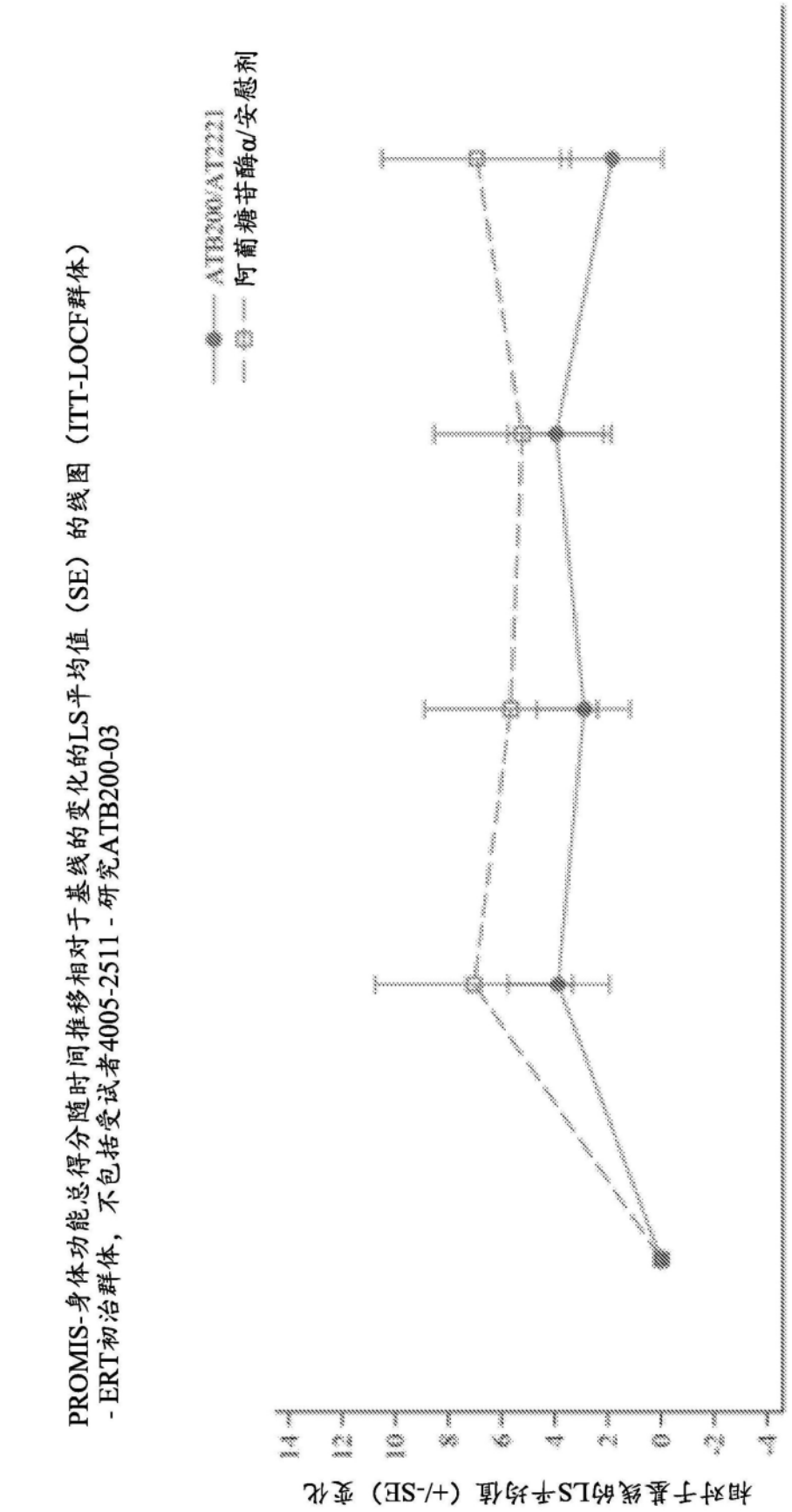
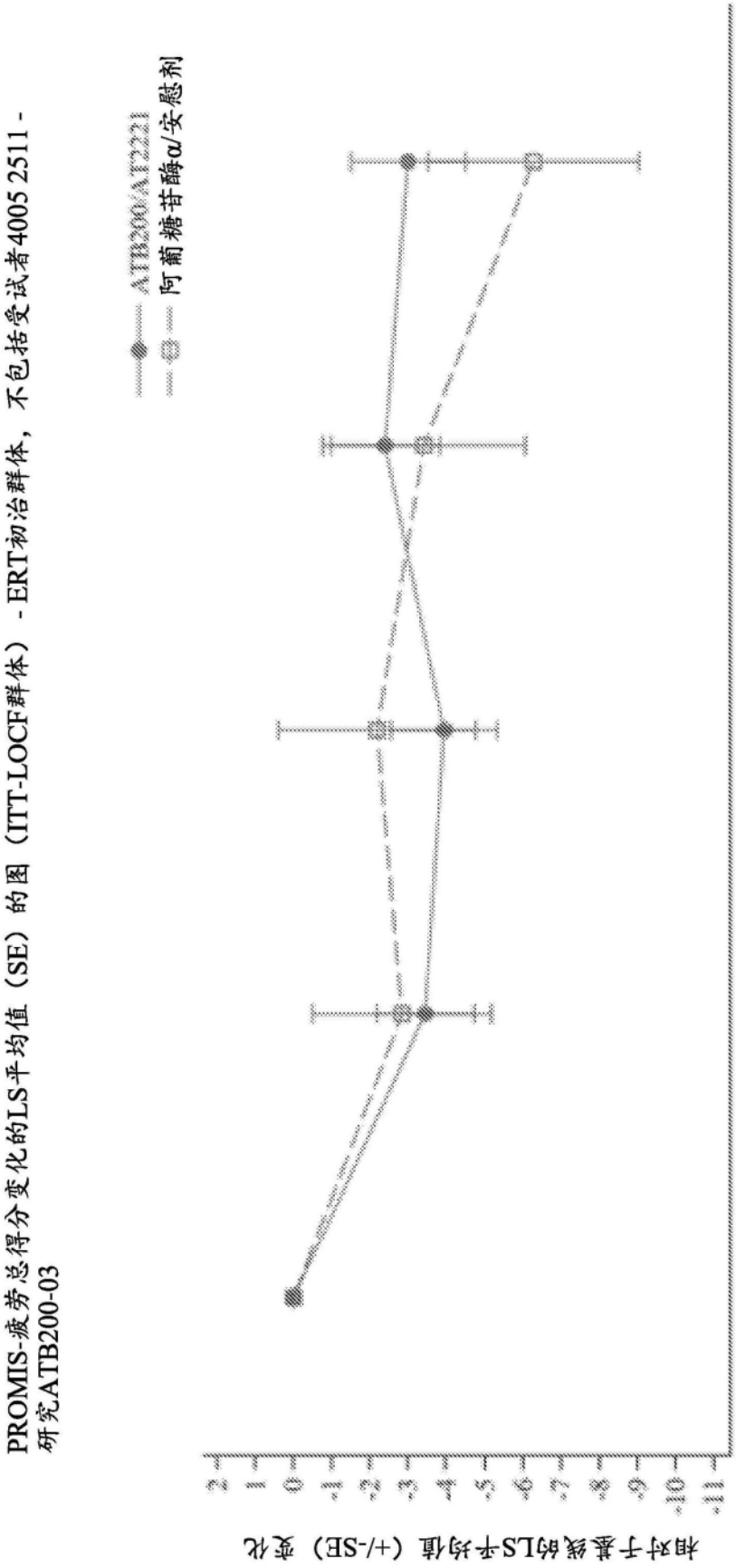
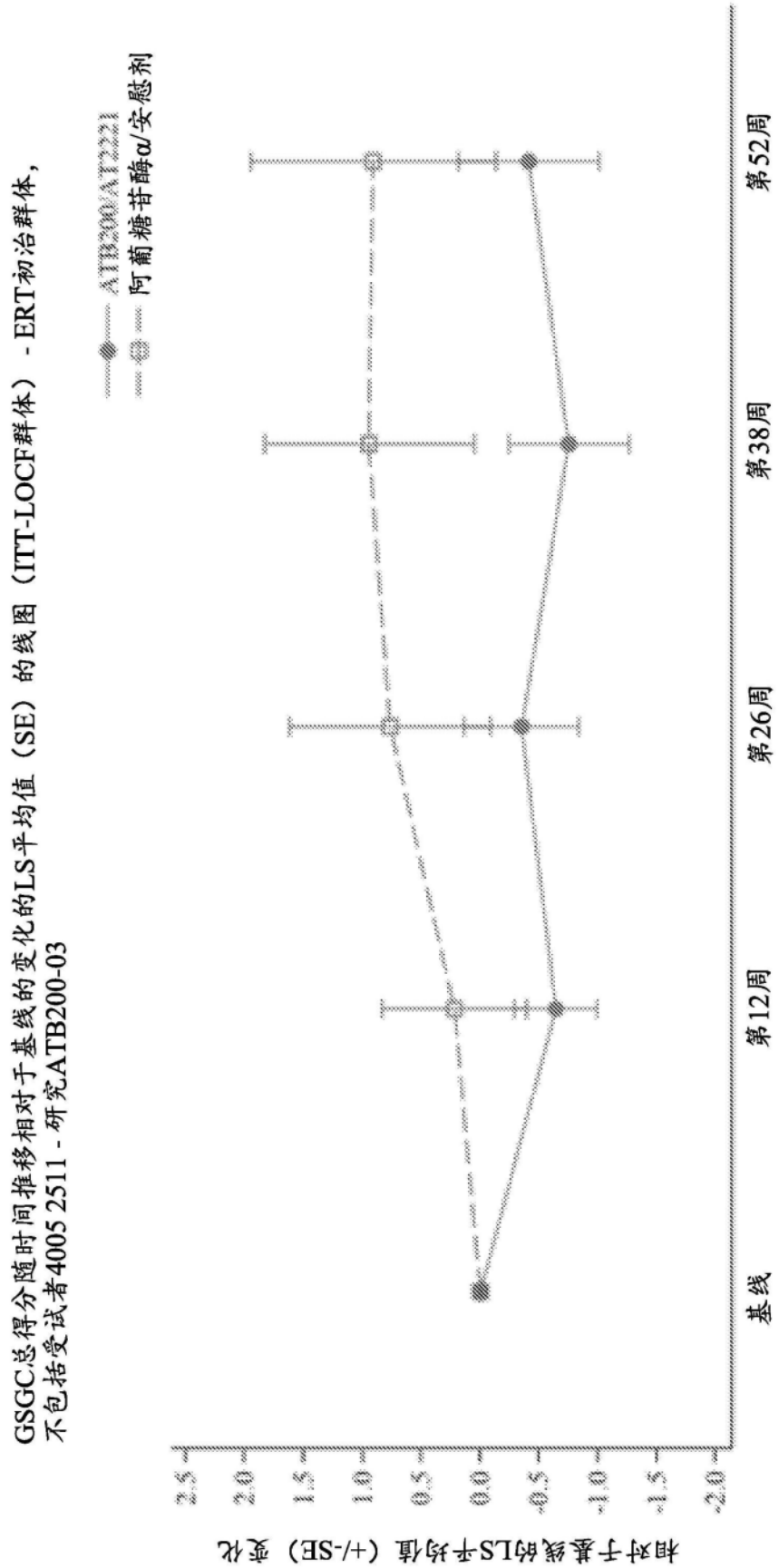

PROMIS-身体功能总得分随时间推移相对于基线的变化的LS平均值（SE）的线图（ITT-LOCF群体）
- ERT初治群体，不包括受试者4005-2511 - 研究ATB200-03
ATB200/AT2221
阿葡糖苷酶α/安慰剂
相对于基线的LS平均值（+/-SE）变化
14
12
10
8
6
4
2
0
-2
-4
基线
第12周
第26周
第38周
第52周
就诊
缩写：ANCOVA = 协方差分析；AT2221 = 麦格司他；ATB200 = 西帕葡糖苷酶α；ERT = 酶替代疗法；ITT = 意向治疗；
LOCF = 末次观察推进法；LS = 最小二乘法；PROMIS = 患者报告结果测量信息系统；SE = 标准误差
注：LS平均值和SE是从ANCOVA模型获得的。

图82



缩写：ANCOVA＝协方差分析；AT2221＝麦格司他；ATB200＝西帕葡糖苷酶α；ERT＝酶替代疗法；ITT＝意向治疗；LOCF＝末次观察推进法；LS＝最小二乘法；PROMIS＝患者报告结果测量信息系统；SE＝标准误差
注：LS平均值和SE是从ANCOVA模型获得的。

图83

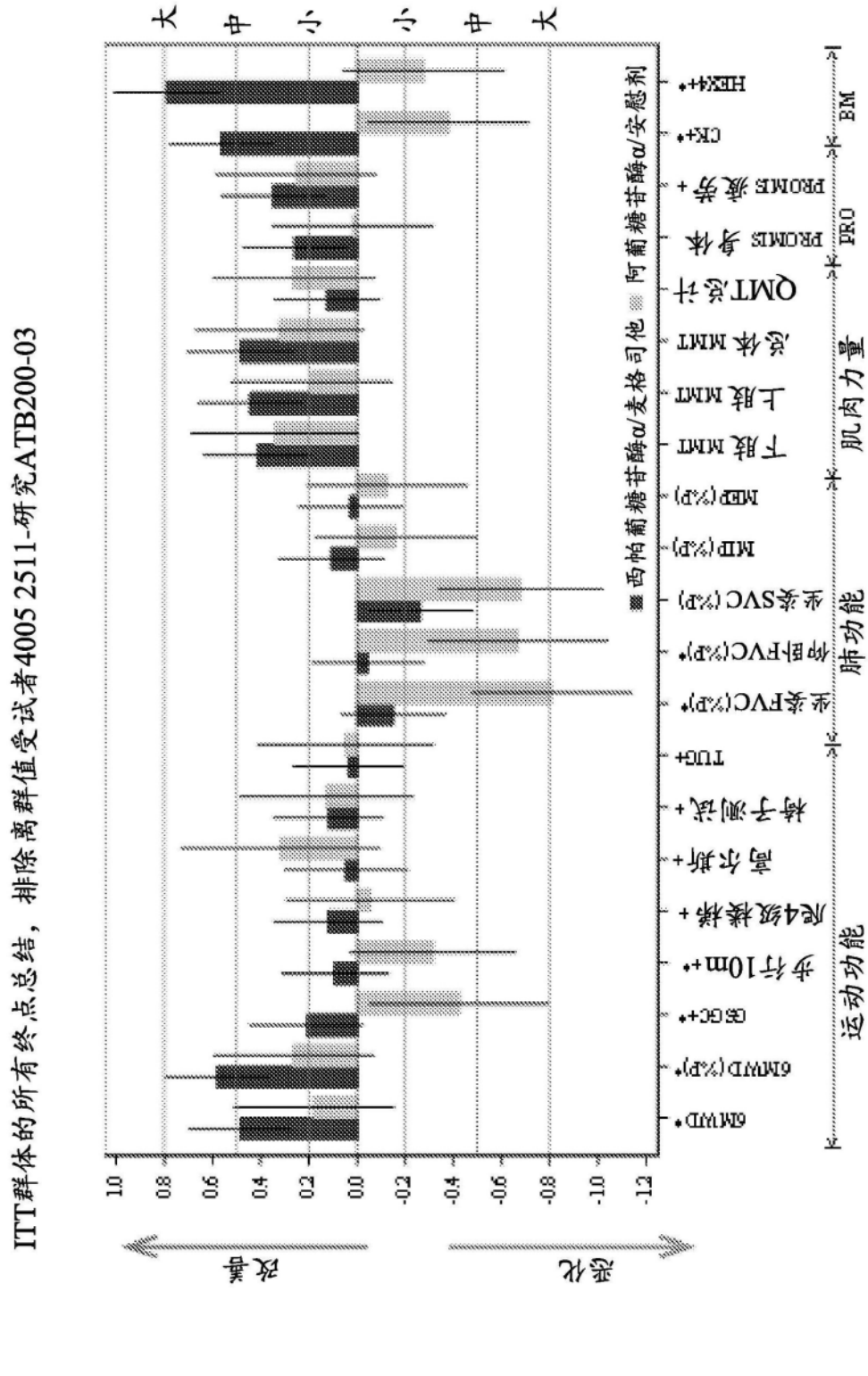


缩写：ANCOVA = 协方差分析；AT2221 = 麦格司他；ATB200 = 西帕葡糖苷酶α；ERT = 酶替代疗法；GSGC = 步态、楼梯、高尔斯动作和椅子测试；ITT = 意向治疗；LOCF = 末次观察推进法；LS = 最小二乘法；SE = 标准误差

注：步态得分基于10米步行测试；楼梯得分是根据受试者爬楼梯而定；高尔斯动作得分基于受试者躺在地板上，然后从地板上站起来达到站立位置；椅子得分基于受试者从椅子上的坐姿到站姿。GSGC总得分是4项测试的加和，范围从最低4分（正常表现）到最高27分（最差得分）。

注：LS平均值和SE是从ANCOVA模型获得的。

图84



缩写：6MWD = 6分钟步行距离；BM = 生物标志物；CFBL = 相对于基线的变化；CI = 置信区间；CK = 肌酸激酶；FVC = 用力肺活量；GSGC = 步态、楼梯、高尔斯动作和椅子测试；Hex4 = 己糖四糖；ITT = 意向治疗；MEP = 最大呼气压力；MIP = 最大吸气压力；MMT = 徒手肌力测试；P = 预测的；PRO = 患者报告的结果；PROMIS = 患者报告结果测量信息系统；QMT = 定量肌肉测试；SVC = 慢肺活量；TUG = 计时起立行走

注：原始平均CFBL值和95% CI通过将每个值除以标准偏差进行缩放，以获得标准化效应大小和95% CI，然后绘制。从标准化平均值到零线的图用实心柱表示；误差棒（标准化95% CI）用黑线绘制。

注：在绘图之前将结果反转，以反映负CFBL值表明改善的事实。

图85

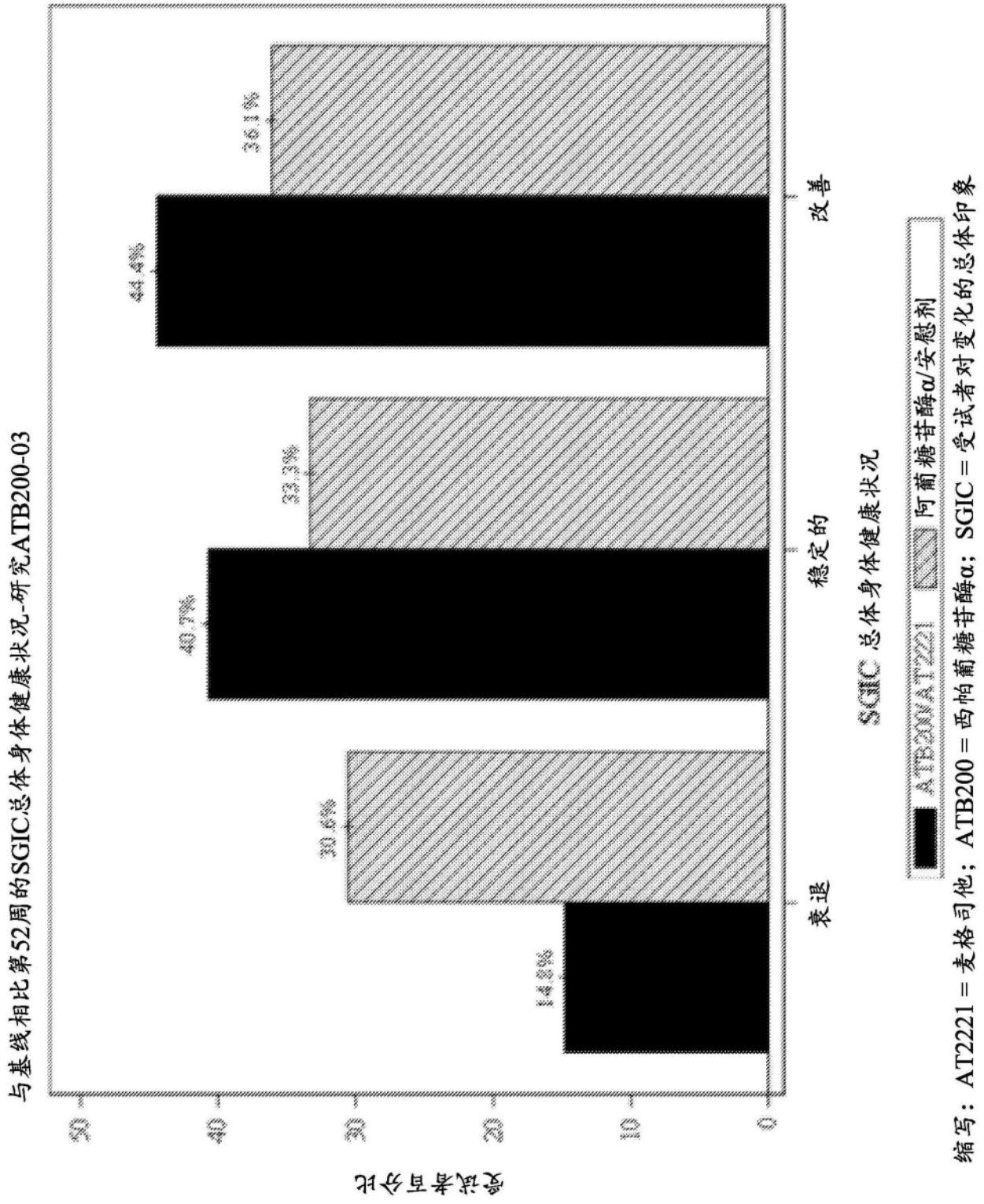

与基线相比第52周的SGIC总体身体健康状况-研究ATB200-03
受试者百分比
50
40
30
20
10
0
14.8%
30.6%
40.7%
33.3%
44.4%
36.1%
衰退
稳定的
改善
SGIC 总体身体健康状况
ATB200/AT2221
阿葡糖苷酶α/安慰剂
缩写：AT2221 = 麦格司他；ATB200 = 西帕葡糖苷酶α；SGIC = 受试者对变化的总体印象

图86

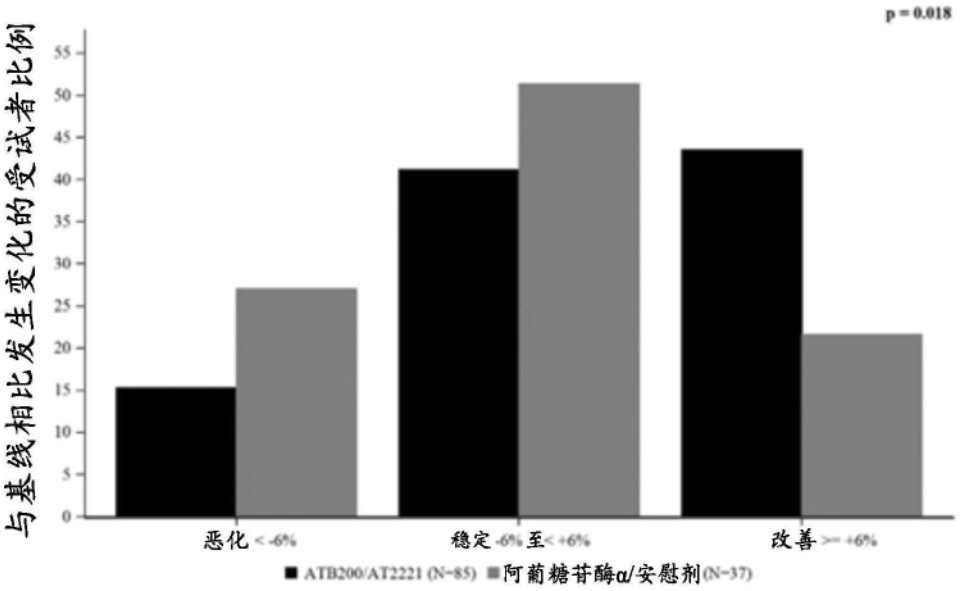

p = 0.018
与基线相比发生变化的受试者比例
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
恶化 < -6%
稳定 -6% 至< +6%
改善 >= +6%
ATB200/AT2221 (N=85)
阿葡糖苷酶α/安慰剂 (N=37)

图87A

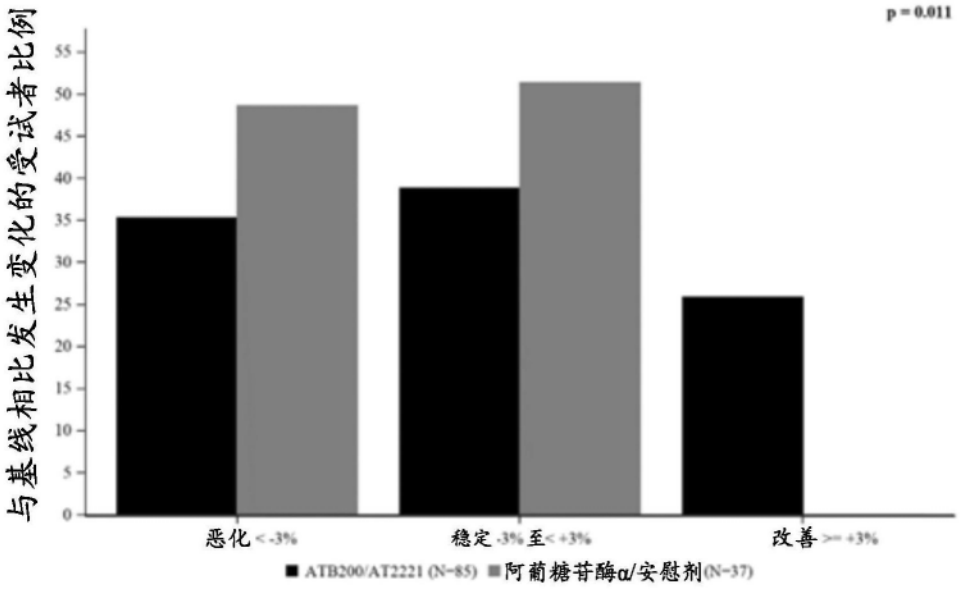

p = 0.011
与基线相比发生变化的受试者比例
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
恶化 < -3%
稳定 -3% 至< +3%
改善 >= +3%
ATB200/AT2221 (N=85)
阿葡糖苷酶α/安慰剂 (N=37)

图87B

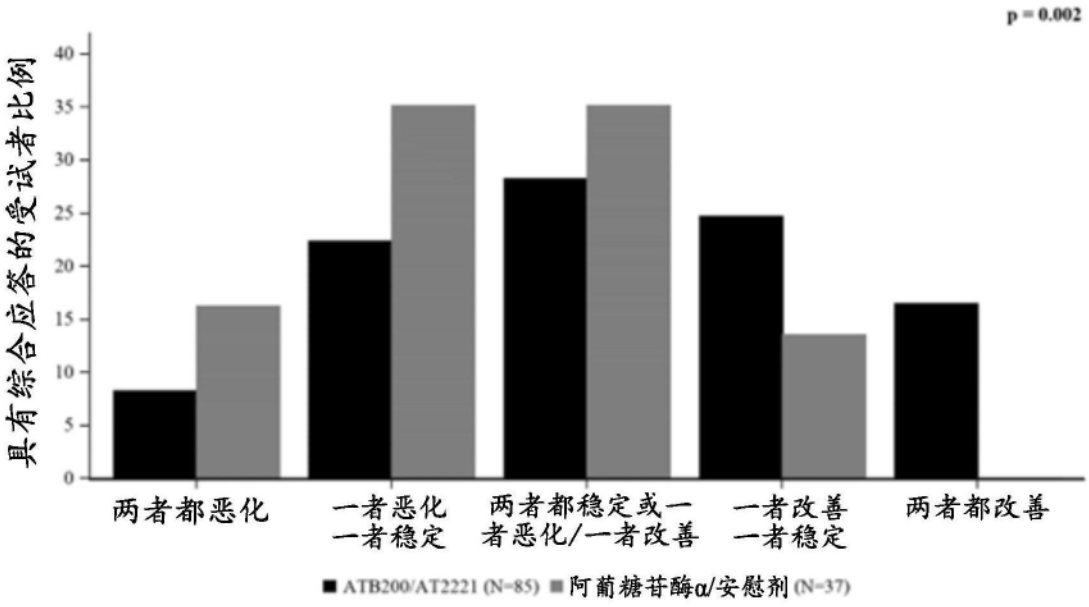

p = 0.002
具有综合应答的受试者比例
40
35
30
25
20
15
10
5
0
两者都恶化
一者恶化
一者稳定
两者都稳定或一
者恶化/一者改善
一者改善
一者稳定
两者都改善
ATB200/AT2221 (N=85)
阿葡糖苷酶α/安慰剂 (N=37)

图87C

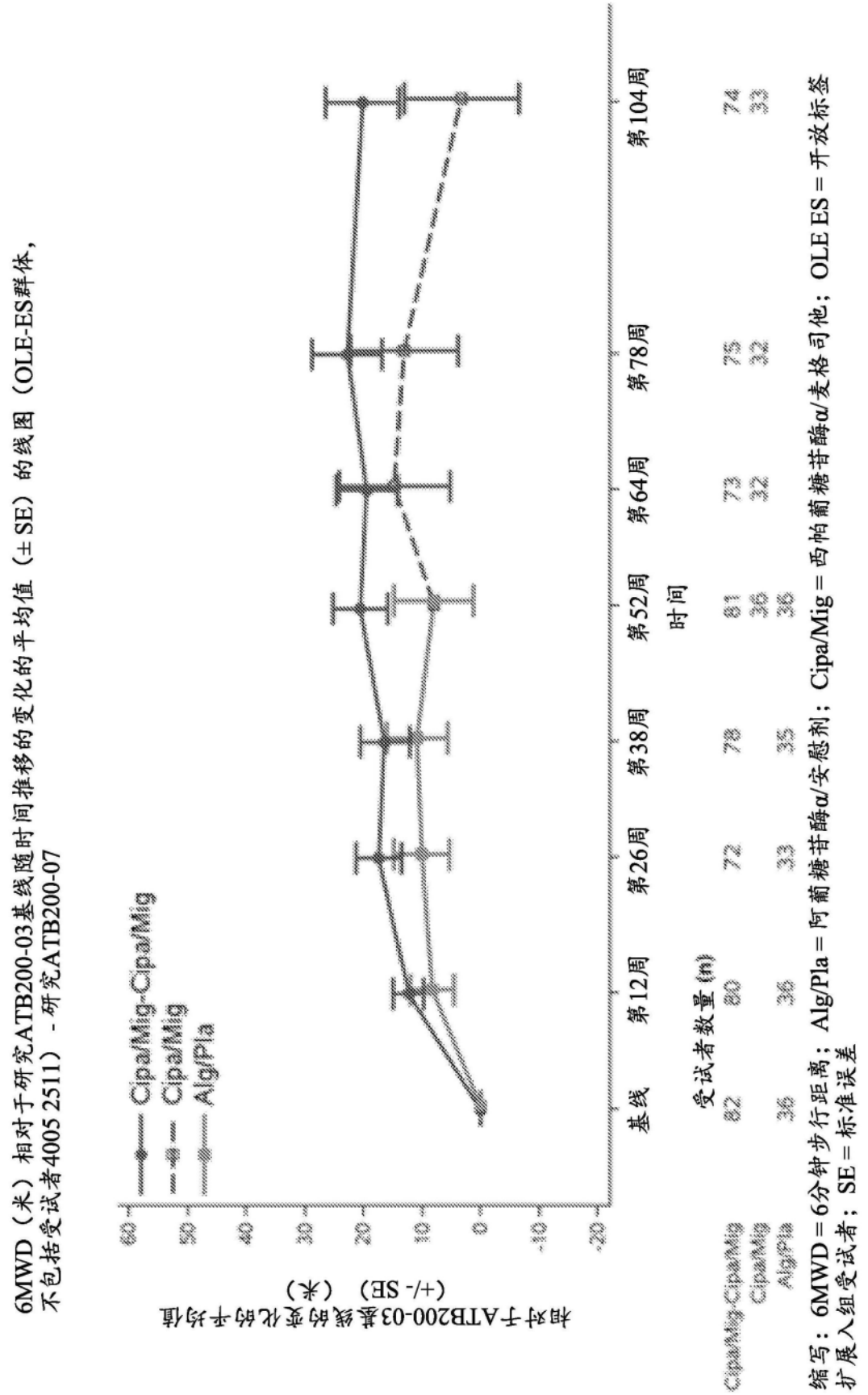

6MWD（米）相对于研究ATB200-03基线随时间推移的变化的平均值（± SE）的线图（OLE-ES群体，不包括受试者4005 2511）- 研究ATB200-07
Cipa/Mig-Cipa/Mig
Cipa/Mig
Alg/Pla
相对于ATB200-03基线的变化的平均值 (+/- SE) （米）
60
50
40
30
20
10
0
-10
-20
基线
第12周
第26周
第38周
第52周
第64周
第78周
第104周
时间
受试者数量 (n)
Cipa/Mig-Cipa/Mig 82 80 72 78 81 73 75 74
Cipa/Mig 36 36 32 32
Alg/Pla 36 36 33 35 36
缩写：6MWD = 6分钟步行距离；Alg/Pla = 阿葡糖苷酶α/安慰剂；Cipa/Mig = 西帕葡糖苷酶α/麦格司他；OLE ES = 开放标签扩展入组受试者；SE = 标准误差

图88

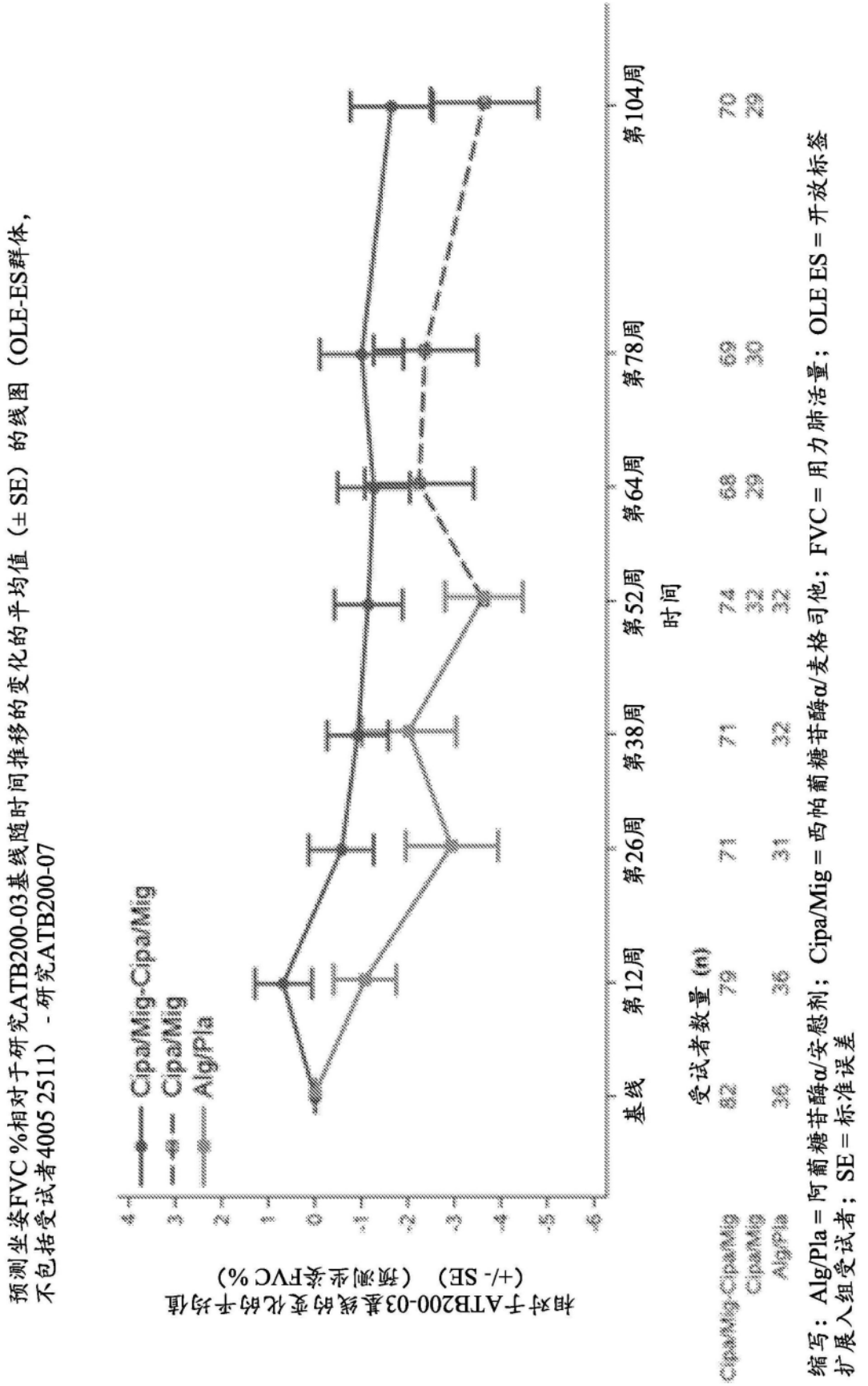

预测坐姿FVC %相对于研究ATB200-03基线随时间推移的变化的平均值（± SE）的线图（OLE-ES群体，
不包括受试者4005 2511）-研究ATB200-07
Cipa/Mig-Cipa/Mig
Cipa/Mig
Alg/Pla
相对于ATB200-03基线的变化的平均值
(+/- SE) （预测坐姿FVC %）
4
3
2
1
0
-1
-2
-3
-4
-5
-6
基线
第12周
第26周
第38周
第52周
第64周
第78周
第104周
时间
受试者数量 (n)
Cipa/Mig-Cipa/Mig 82 79 71 71 74 68 69 70
Cipa/Mig 32 29 30 29
Alg/Pla 36 36 31 32 32
缩写：Alg/Pla = 阿葡糖苷酶α/安慰剂；Cipa/Mig = 西帕葡糖苷酶α/麦格司他；FVC = 用力肺活量；OLE ES = 开放标签
扩展入组受试者；SE = 标准误差

图89

CK（U/L）相对于研究ATB200-03基线随时间推移的变化的平均值（± SE）的线图（OLE-ES群体，不包括受试者4005 -2511） - 研究ATB200-07

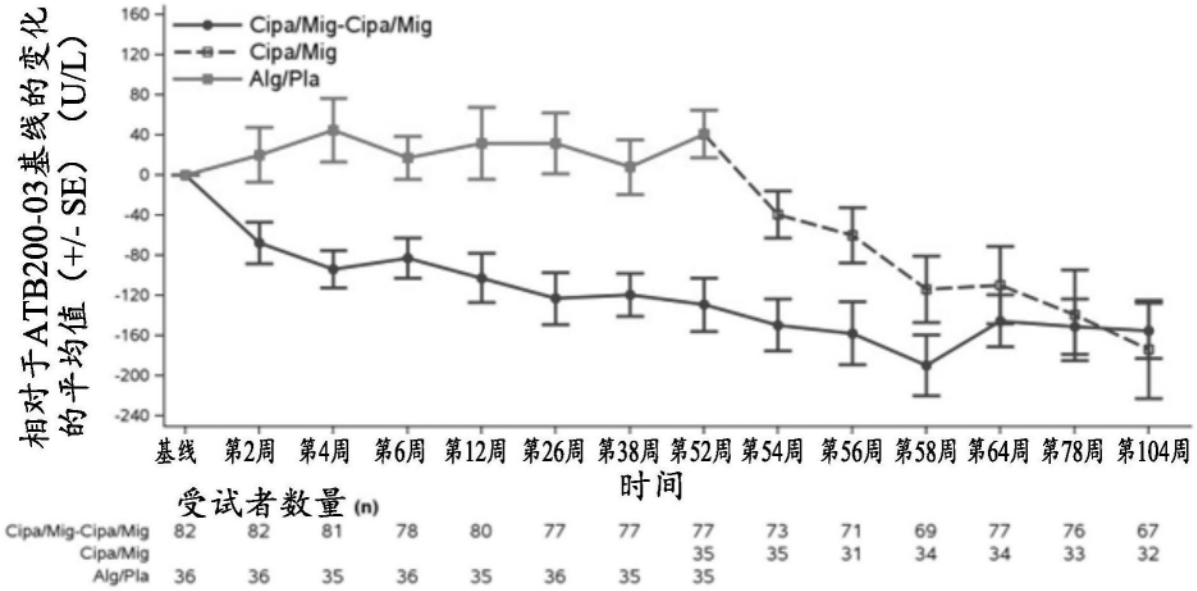


图90A

Hex4（mmol/mol肌酐）相对于研究ATB200-03基线随时间推移的变化的平均值（± SE）的线图（OLE-ES群体，不包括受试者4005 2511） - 研究ATB200-07

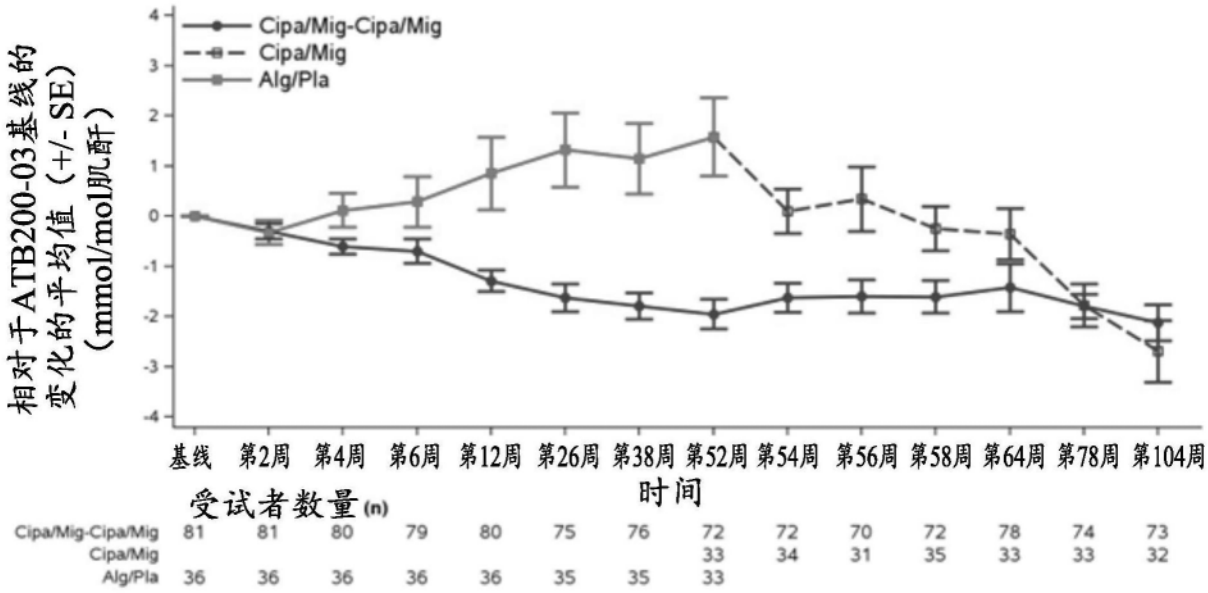


图90B