202400212

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202400212 A

(43)公開日： 中華民國 113 (2024) 年 01 月 01 日

(21)申請案號：112116800 (22)申請日： 中華民國 112 (2023) 年 05 月 05 日

(51)Int. Cl.： *A61K38/16 (2006.01)* *A61K38/30 (2006.01)*
*A61K38/47 (2006.01)* *A61K47/62 (2017.01)*
*A61P21/00 (2006.01)* *A61P3/00 (2006.01)*
*A61P43/00 (2006.01)*

(30)優先權：2022/05/05 美國 63/338,601
2022/08/19 美國 63/399,498
2022/08/19 美國 63/399,491
2022/09/07 美國 63/404,475
2022/10/10 美國 63/414,897
2022/11/30 美國 63/428,970
2022/12/12 美國 63/431,920
2022/12/22 美國 63/434,791
2023/02/21 美國 63/447,222

(71)申請人：美商阿米庫斯醫療股份有限公司 (美國) AMICUS THERAPEUTICS, INC. (US)
美國

(72)發明人：巴斯 傑 BARTH, JAY (US)；達斯 希拉西塔拉曼 DAS, SHEELA SITARAMAN (US)；卡斯特利 傑夫 CASTELLI, JEFF (US)

(74)代理人：李世章；彭國洋

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：50 項 圖式數：90 共 345 頁

(54)名稱

用於治療龐貝氏病之方法

(57)摘要

本文提供藉由向受試者施用重組人酸性 α-葡糖苷酶分子群或其藥物組成物或配製物以及酶穩定劑來治療龐貝氏病之方法。

Provided herein are methods for treating Pompe disease by administering to a subject a population of recombinant human acid α-glucosidase molecules or a pharmaceutical composition or formulation thereof, and an enzyme stabilizer.

# 【發明摘要】

【中文發明名稱】　用於治療龐貝氏病之方法

【英文發明名稱】　METHODS FOR TREATING POMPE DISEASE

【中文】

本文提供藉由向受試者施用重組人酸性α-葡糖苷酶分子群或其藥物組成物或配製物以及酶穩定劑來治療龐貝氏病之方法。

【英文】

Provided herein are methods for treating Pompe disease by administering to a subject a population of recombinant human acid α-glucosidase molecules or a pharmaceutical composition or formulation thereof, and an enzyme stabilizer.

【指定代表圖】　無

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

# 【發明說明書】

【中文發明名稱】　用於治療龐貝氏病之方法

【英文發明名稱】　METHODS FOR TREATING POMPE DISEASE

【技術領域】

【0001】本揭露關於藉由投與重組人α-葡糖苷酶來治療龐貝氏病之方法。

【先前技術】

【0002】龐貝氏病（也稱為第二型肝醣儲積症（GSD-II）或酸性麥芽糖酶缺乏症）係一種遺傳性溶酶體貯積病，由酸性α-葡糖苷酶（GAA）活性缺乏引起。患有龐貝氏病的人缺少或具有降低水平的酸性α-葡糖苷酶（GAA），GAA係一種將肝醣分解為葡萄糖的酶，葡萄糖係肌肉的主要能量來源。這種酶缺乏導致溶酶體中過量的肝醣累積，該等溶酶體係包含通常分解肝醣和其他細胞碎片或廢物的酶的細胞內細胞器。患有龐貝氏病的受試者的某些組織（尤其是肌肉）中的肝醣累積損害了細胞正常運行的能力。在龐貝氏病中，在溶酶體中，特別是在骨骼肌細胞中，肝醣沒有適當地代謝並逐漸累積，並且在該疾病的嬰兒發病形式中，在心肌細胞中，肝醣沒有適當地代謝並逐漸累積。肝醣的積累損害肌細胞和神經細胞以及其他受影響的組織中的那些肌細胞和神經細胞。

【0003】目前對龐貝氏病的非姑息治療包括使用以商標LUMIZYME®和MYOZYME®出售的重組阿葡糖苷酶α產品和以商標NEXVIAZYME®出售的艾夫糖苷酶α產品的酶替代療法（ERT）。這種傳統的酶替代療法尋求藉由投與rhGAA替換溶酶體中缺失的GAA，從而恢復細胞分解溶酶體肝醣的能力來治療

龐貝氏病。LUMIZYME®/MYOZYME®和NEXVIAZYME®係由賽諾菲健贊公司（Sanofi Genzyme）作為生物製劑生產或銷售的且由美國食品和藥物管理局批准並且藉由參考醫生案頭參考（*Physician's Desk Reference*）（2014）（其藉由引用特此併入）描述的常規形式的rhGAA。

【0004】 然而，目前上市的ERT最多只能在有限的時間內對肌肉功能、力量和呼吸功能的測量提供有限的改善，隨後該等參數會緩慢衰退（Toscano和Schoser, (2013) *J Neurol* [神經病學雜誌] 260, 951-959; Wyatt等人, (2012) *Health Technol Assess* [健康技術評估] 16(39)）。需要提供長期改善的龐貝氏病治療。

【發明內容】

【0005】 本文提供了一種用於使患有龐貝氏病的受試者的運動功能和/或肺功能改善和/或穩定持續至少24個月、至少36個月或至少48個月之方法，該方法包括向該受試者與酶穩定劑同時或依次地投與重組人酸性α-葡糖苷酶（rhGAA）分子群；其中每個rhGAA分子包含七個潛在N-醣基化位點；其中rhGAA分子上40%-60%的N-聚糖為複合型N-聚糖；其中如使用液相層析串聯質譜（LC-MS/MS）所測定，rhGAA分子在第一潛在N-醣基化位點處包含至少0.5 mol雙-甘露糖-6-磷酸（雙-M6P）/mol rhGAA；並且其中，與基線相比，該方法改善和/或穩定了受試者的運動功能、肌肉力量和/或肺功能。

【0006】 在一些實施方式中，受試者係經歷過酶替代療法（ERT）的受試者。

【0007】 在用於治療經歷過ERT的受試者之方法的一些實施方式中，運動功能藉由6分鐘步行測試來測量；以及在開始治療後12或24個月，6分鐘步行距離（6MWD）相對於基線的改善為至少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】在用於治療經歷過ERT的受試者之方法的一些實施方式中，運動功能藉由6分鐘步行測試來測量；以及在開始治療後36個月，6分鐘步行距離（6MWD）相對於基線的改善為至少5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、41、42、43、44、45、46或47米。

【0009】在用於治療經歷過ERT的受試者之方法的一些實施方式中，受試者具有以下的基線6MWD：(a) 至少300米；或 (b) 少於300米。

【0010】在用於治療經歷過ERT的受試者之方法的一些實施方式中，肌肉力量藉由徒手肌力測試（MMT）測量；以及在開始治療後12、24、36、48個月，MMT下肢得分相對於基線的改善為至少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】在用於治療經歷過ERT的受試者之方法的一些實施方式中，受試者具有以下的基線MMT下肢得分：(a) 至少25；或 (b) 少於25。

【0012】在用於治療經歷過ERT的受試者之方法的一些實施方式中，肺功能藉由坐姿用力肺活量（FVC）測試測量，並且在開始治療後24個月或36個月，受試者的預測FVC百分比與基線相比係穩定的。

【0013】在用於治療經歷過ERT的受試者之方法的一些實施方式中，受試者具有以下的基線預測FVC百分比：(a) 至少50%；或 (b) 少於50%。

【0014】在一些實施方式中，經歷過ERT的受試者先前已用阿葡糖苷酶α治療。在一些實施方式中，經歷過ERT的受試者先前已用阿葡糖苷酶α治療約2年至約6年。在一些實施方式中，經歷過ERT的受試者先前已用阿葡糖苷酶α治療至少約7年。在一些實施方式中，經歷過ERT的受試者係不能行走的。在一些實

施方式中，經歷過ERT的受試者係能行走的。

【0015】 在一些實施方式中，受試者係ERT初治受試者。

【0016】 在用於治療ERT初治受試者之方法的一些實施方式中，運動功能藉由6分鐘步行測試來測量；以及在開始治療後12、24、36或48個月，6分鐘步行距離（6MWD）相對於基線的改善為至少40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59或60米。

【0017】 在用於治療ERT初治受試者之方法的一些實施方式中，運動功能藉由6分鐘步行測試來測量；以及在開始治療後36個月，6分鐘步行距離（6MWD）相對於基線的改善為至少34、35、40、41、42、43、44或45米。

【0018】 在用於治療ERT初治受試者之方法的一些實施方式中，受試者具有以下的基線6MWD：(a) 至少300米；或 (b) 少於300米。

【0019】 在用於治療ERT初治受試者之方法的一些實施方式中，肌肉力量藉由徒手肌力測試（MMT）測量；以及在開始治療後12、24、36、或48個月，MMT下肢得分相對於基線的改善為至少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】 在用於治療ERT初治受試者之方法的一些實施方式中，受試者具有以下的基線MMT下肢得分：(a) 至少25；或 (b) 少於25。

【0021】 在用於治療ERT初治受試者之方法的一些實施方式中，肺功能藉由坐姿用力肺活量（FVC）測試來測量；以及在開始治療後12、24、36或48個月，受試者的預測FVC百分比相對於基線的改善為至少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】 在用於治療ERT初治受試者之方法的一些實施方式中，肺功能藉

由坐姿用力肺活量（FVC）測試來測量；以及在開始治療後36個月，受試者的預測FVC百分比相對於基線的改善為至少5.7%、5.8%、5.9%、6.0%、6.1%或6.2%。

【0023】 在用於治療ERT初治受試者之方法的一些實施方式中，受試者具有以下的基線預測FVC百分比：a) 至少50%；或 (b) 少於50%。

【0024】 在本文揭露的任何方法的一些實施方式中，與基線相比，該方法進一步降低受試者中至少一種肌肉損傷標誌物和/或至少一種肝醣累積標誌物的水平。在一些實施方式中，至少一種肌肉損傷標誌物係肌酸激酶（CK），和/或至少一種肝醣累積標誌物係尿己糖四糖（Hex4）。

【0025】 在一些實施方式中，rhGAA分子群以5 mg/kg至20 mg/kg、視需要20 mg/kg的劑量投與。

【0026】 在一些實施方式中，rhGAA分子群每兩週投與一次。在一些實施方式中，rhGAA分子群靜脈內投與。

【0027】 在一些實施方式中，酶穩定劑係麥格司他或其藥學上可接受的鹽，其中進一步視需要口服投與麥格司他或其藥學上可接受的鹽。在一些實施方式中，麥格司他或其藥學上可接受的鹽以195 mg或260 mg的劑量投與。

【0028】 在一些實施方式中，麥格司他或其藥學上可接受的鹽在投與rhGAA分子群之前投與，視需要在投與rhGAA分子群之前一小時投與。在一些實施方式中，受試者在投與麥格司他或其藥學上可接受的鹽之前禁食至少兩小時並且在投與麥格司他或其藥學上可接受的鹽之後禁食至少兩小時。

【0029】 在一些實施方式中，rhGAA分子包含與SEQ ID NO: 4或SEQ ID NO: 6至少95%相同的胺基酸序列。

【0030】 在一些實施方式中，rhGAA分子包含SEQ ID NO: 4或SEQ ID NO: 6的胺基酸序列。

【0031】 在一些實施方式中，至少30%的rhGAA分子包含一個或多個帶有

一個甘露糖-6-磷酸殘基（單-M6P）或雙-M6P的N-聚糖單元，如使用LC-MS/MS測定的。

【0032】 在一些實施方式中，rhGAA分子包含平均0.5 mol至7.0 mol單-M6P或雙-M6P/mol rhGAA，如使用LC-MS/MS測定的。

【0033】 在一些實施方式中，rhGAA分子包含平均2.0至8.0 mol唾液酸/mol rhGAA，如使用LC-MS/MS測定的。

【0034】 在一些實施方式中，如使用LC-MS/MS測定的，rhGAA分子包含平均至少2.5 mol M6P/mol rhGAA和至少4 mol唾液酸/mol rhGAA。

【0035】 在一些實施方式中，每mol rhGAA，rhGAA分子包含：(a) 在第二潛在N-醣基化位點處的平均0.4至0.6 mol單-M6P；(b) 在第四潛在N-醣基化位點處的平均0.4至0.6 mol 雙-M6P；或 (c) 在第四潛在N-醣基化位點處的平均0.3至0.4 mol單-M6P；其中 (a) - (c) 係使用LC-MS/MS測定的。

【0036】 在一些實施方式中，每mol rhGAA，rhGAA分子進一步包含4 mol至7.3 mol唾液酸；並且，每mol rhGAA，rhGAA分子包含：(a) 在第三潛在N-醣基化位點處的平均0.9至1.2 mol唾液酸；(b) 在第五潛在N-醣基化位點處的平均0.8至0.9 mol唾液酸；或 (c) 在第六潛在N-醣基化位點處的平均1.5至4.2 mol唾液酸；其中 (a) - (c) 係使用LC-MS/MS測定的。

【0037】 在一些實施方式中，rhGAA分子群被配製在進一步包含至少一種藥學上可接受的緩衝液、賦形劑或載劑的藥物組成物中。

【0038】 在一些實施方式中，藥物組成物進一步包含至少一種選自由檸檬酸鹽、磷酸鹽及其組合組成之群組的緩衝液，以及至少一種選自由甘露醇、聚山梨酯80及其組合組成之群組的賦形劑；其中藥物組成物具有5.0至7.0的pH。

【0039】 在一些實施方式中，藥物組成物具有5.0至6.0的pH。

【0040】 在一些實施方式中，藥物組成物進一步包含水、酸化劑、鹼化劑

或其組合。

【0041】在一些實施方式中，在藥物組成物中，rhGAA分子群以5-50 mg/mL的濃度存在，至少一種緩衝液係以10-100 mM的濃度存在的檸檬酸鈉緩衝液，至少一種賦形劑係以10-50 mg/mL的濃度存在的甘露醇和以0.1-1 mg/mL的濃度存在的聚山梨酯80，並且藥物組成物進一步包含水以及視需要包含酸化劑和/或鹼化劑；其中藥物組成物具有6.0的pH。

【0042】在一些實施方式中，在藥物組成物中，rhGAA分子群以15 mg/mL的濃度存在，檸檬酸鈉緩衝液以25 mM的濃度存在，甘露醇以20 mg/mL的濃度存在，聚山梨酯80以0.5 mg/mL的濃度存在。

【0043】在一些實施方式中，rhGAA由中國倉鼠卵巢細胞產生。

【圖式簡單說明】

【0044】[圖1A]顯示了非磷酸化高甘露糖N-聚糖、單-M6P N-聚糖、和雙-M6P N-聚糖。圖1B顯示了M6P基團的化學結構。每個方塊代表N-乙醯葡糖胺（GlcNAc），每個圓圈代表甘露糖，每個P代表磷酸鹽。

【0045】[圖2A]描述了rhGAA經由帶有M6P的N-聚糖對靶組織（例如，患有龐貝氏病的受試者的肌肉組織）之生產性靶向。圖2B描述了對非靶組織（例如，肝臟和脾）或藉由非M6P N-聚糖與非靶組織的結合之非生產性藥物清除。

【0046】[圖3]係用於製造、捕獲、和純化重組溶酶體蛋白的示例性方法之示意圖。

【0047】[圖4]顯示了用於用編碼rhGAA的DNA轉化CHO細胞之DNA構建體。

【0048】[圖5]係示出在陰離子交換（AEX）柱上被捕獲（實施方式2）和不被捕獲（實施方式1）的ATB200 rhGAA的CIMPR親和層析的結果之圖。

【0049】[圖6A - 圖6H]顯示了使用兩種不同的LC-MS/MS分析技術對ATB200 rhGAA進行位點特異性N-醣基化分析之結果。圖6A顯示了ATB200的七個潛在N-醣基化位點之位點佔據率。圖6B顯示了ATB200的第一潛在N-醣基化位點的N-醣基化譜之兩個分析。圖6C顯示了ATB200的第二潛在N-醣基化位點的N-醣基化譜之兩個分析。圖6D顯示了ATB200的第三潛在N-醣基化位點的N-醣基化譜之兩個分析。圖6E顯示了ATB200的第四潛在N-醣基化位點的N-醣基化譜之兩個分析。圖6F顯示了ATB200的第五潛在N-醣基化位點的N-醣基化譜之兩個分析。圖6G顯示了ATB200的第六潛在N-醣基化位點的N-醣基化譜之兩個分析。圖6H總結了第一、第二、第三、第四、第五和第六潛在N-醣基化位點的單磷酸化和雙磷酸化種類之相對百分比。

【0050】[圖7]係顯示LUMIZYME®（較細的線，向左側洗脫）和ATB200（較粗的線，向右側洗脫）的Polywax洗脫譜之圖。

【0051】[圖8]係顯示相比鑒定為BP-rhGAA、ATB200-1、和ATB200-2的ATB200 rhGAA的三種不同的製劑，LUMIZYME®的N-聚糖結構的概述之表。

【0052】[圖9A和圖9B]係分別顯示LUMIZYME®和MYOZYME®的CIMPR親和層析結果之圖。

【0053】[圖10]係比較ATB200 rhGAA的CIMPR結合親和力（左軌跡線）與LUMIZYME®的CIMPR結合親和力（右軌跡線）之圖。

【0054】[圖11A]係在不同GAA濃度下，比較在正常成纖維細胞內的ATB200 rhGAA活性（左軌跡線）與LUMIZYME® rhGAA活性（右軌跡線）之圖。圖11B係在不同GAA濃度下，比較來自患有龐貝氏病的受試者的成纖維細胞中的ATB200 rhGAA活性（左軌跡線）與LUMIZYME® rhGAA活性（右軌跡線）之表。圖11C係比較來自正常受試者和患有龐貝氏病的受試者的成纖維細胞的K攝取之表。

【0055】 [圖12]描繪了ATB200在酸性或中性pH緩衝液中之穩定性，該穩定性在使用SYPRO橙色的熱穩定性測定中評估，因為當蛋白質變性時染料的螢光增加。

【0056】 [圖13]顯示用媒劑、阿葡糖苷酶α或ATB200/麥格司他處理的WT小鼠或*Gaa* KO小鼠的組織肝醣含量，使用澱粉葡糖苷酶消化測定。條形代表7隻小鼠/組之平均值 ± SEM。*在單向ANOVA下使用Dunnett方法進行多重比較，與阿葡糖苷酶α相比，$p < 0.05$。

【0057】 [圖14]描繪了用媒劑、阿葡糖苷酶α或ATB200/麥格司他處理的*Gaa* KO小鼠或WT小鼠的肌纖維中之LAMP1陽性囊泡。圖像取自股外側肌並且代表7隻小鼠/組。放大倍數 = 200x（插圖中為1,000x）。

【0058】 [圖15A]顯示了用媒劑、阿葡糖苷酶α或ATB200/麥格司他處理的*Gaa* KO小鼠或WT小鼠的肌纖維中之LC3陽性聚集體。圖像取自股外側肌並且代表7隻小鼠/組。放大倍數 = 400x。圖15B顯示了LC3 II蛋白之西方墨點法分析。每條泳道總共載入了30 mg蛋白質。

【0059】 [圖16]顯示了用媒劑、阿葡糖苷酶α或ATB200/麥格司他處理的*Gaa* KO小鼠或WT小鼠的肌纖維中之戴斯富林蛋白（Dysferlin）表現。圖像取自股外側肌並且代表7隻小鼠/組。放大倍數 = 200x。

【0060】 [圖17]描繪了LAMP1（綠色）（參見例如「B」）和LC3（紅色）（參見例如「A」）在單纖維中之共免疫螢光染色，該等單纖維分離自用媒劑、阿葡糖苷酶α或ATB200處理的*Gaa* KO小鼠的白色腓腸肌。「C」描繪了自噬碎片的清除和沒有擴大的溶酶體。每隻動物至少檢查了30個纖維。

【0061】 [圖18]描繪了與單獨的ATB200相比，麥格司他分別在17 μM和170 μM使ATB200穩定。

【0062】 [圖19A-圖19H]顯示了ATB200 rhGAA的位點特異性N-醣基化分

析之結果，包括第七潛在N-醣基化位點處的N-醣基化譜，使用蛋白酶消化的ATB200的LC-MS/MS分析。圖19A-圖 19H提供了以不同規模生產的十批ATB200的平均數據。

【0063】 [圖19A]顯示了ATB200的七個潛在N-醣基化位點之平均位點佔據率。N-醣基化位點根據SEQ ID NO: 1提供。CV = 變異係數。

【0064】 [圖19B-圖19H]顯示了ATB200所有七個潛在N-醣基化位點之位點特異性N-醣基化分析，位點編號根據SEQ ID NO: 5提供。條形代表被鑒定為分析的十個批次ATB200的特定N-聚糖組的N-聚糖種類之最大和最小百分比。圖19B顯示了ATB200的第一潛在N-醣基化位點的N-醣基化譜。圖19C顯示了ATB200的第二潛在N-醣基化位點之N-醣基化譜。圖19D顯示了ATB200的第三潛在N-醣基化位點之N-醣基化譜。圖19E顯示了ATB200的第四潛在N-醣基化位點的N-醣基化譜。圖19F顯示了ATB200的第五潛在N-醣基化位點之N-醣基化譜。圖19G顯示了ATB200的第六潛在N-醣基化位點之N-醣基化譜。圖19H顯示了ATB200的第七潛在N-醣基化位點之N-醣基化譜。

【0065】 [圖20A-圖20B]進一步表徵和總結了如也在圖19A-19H所示的ATB200之N-醣基化譜。圖20A顯示了ATB200的2-鄰胺基苯甲酸（2-AA）聚糖映射作圖和LC/MS-MS分析並且總結了ATB200中鑒定的N-聚糖種類占總螢光之百分比。來自2-AA聚糖映射作圖和LC-MS/MS分析的數據也在表6中描述。圖20B總結了ATB200的所有七個潛在N-醣基化位點的平均位點佔據率和平均N-聚糖譜，包括總磷酸化、單磷酸化、雙磷酸化和唾液酸化。ND = 未檢測到。

【0066】 [圖21]顯示了ATB200-03研究設計示意圖。

【0067】 [圖22]顯示了參與ATB200-03研究的122名受試者的基線6分鐘步行距離（6MWD）和坐姿用力肺活量（FVC）特徵。AT-GAA組：接受ATB200/麥格司他治療的受試者；阿葡糖苷酶α組：接受阿葡糖苷酶α/安慰劑治療的受試

者。

【0068】 [圖23A]描繪了6MWD和FVC數據，其顯示了總群體（n=122）的基線、第52週時相對於基線之變化（「CFBL」）、差異和P值。AT-GAA組：接受ATB200/麥格司他治療的受試者；阿葡糖苷酶α組：接受阿葡糖苷酶α/安慰劑治療的受試者。

【0069】 [圖23B]描繪了6MWD和FVC數據，顯示了總群體（n=122）隨時間相對於基線之變化。西帕葡糖苷酶（Cipaglucosidase）α/麥格司他組：接受ATB200/麥格司他治療的受試者；阿葡糖苷酶α/安慰劑：接受阿葡糖苷酶α/安慰劑治療的受試者。

【0070】 [圖24]描繪了6MWD和FVC數據，其顯示了經歷過ERT的群體（n=95）的基線、第52週之CFBL、差異和P值。AT-GAA組：接受ATB200/麥格司他治療的受試者；阿葡糖苷酶α組：接受阿葡糖苷酶α/安慰劑治療的受試者。

【0071】 [圖25]描繪了經歷過ERT的群體（n=95）在第12週、第26週、第38週和第52週時相對於基線之6MWD和FVC變化。

【0072】 [圖26A]描繪了6MWD和FVC數據，其顯示了ERT初治群體（n=27）的基線、第52週之CFBL、差異和P值。AT-GAA組：接受ATB200/麥格司他治療的受試者；阿葡糖苷酶α組：接受阿葡糖苷酶α/安慰劑治療的受試者。

【0073】 [圖26B]描繪了6MWD和FVC數據，顯示了ERT初治群體（n=27）隨時間相對於基線之變化。西帕葡糖苷酶（Cipaglucosidase）α/麥格司他組：接受ATB200/麥格司他治療的受試者；阿葡糖苷酶α/安慰劑：接受阿葡糖苷酶α/安慰劑治療的受試者。

【0074】 [圖27]描繪了總群體和經歷過ERT的群體的關鍵次要終點和生物標誌物之基線特徵。AT-GAA組：接受ATB200/麥格司他治療的受試者；阿葡糖苷酶α組：接受阿葡糖苷酶α/安慰劑治療的受試者。

【0075】 [圖28]描繪了總群體（左）和經歷過ERT的群體（右）在第12週、第26週、第38週和第52週時相對於基線之較低徒手肌力測試（MMT）變化。

【0076】 [圖29]描繪了總群體（左）和經歷過ERT的群體（右）在第12週、第26週、第38週和第52週時相對於基線之步態（gait）、樓梯（stairs）、高爾斯（Gower）、椅子（chair）（GSGC）變化。西帕葡糖苷酶（Cipaglucosidase）α/麥格司他組：接受ATB200/麥格司他治療的受試者；阿葡糖苷酶α/安慰劑：接受阿葡糖苷酶α/安慰劑治療的受試者。

【0077】 [圖30]描繪了總群體（左）和經歷過ERT的群體（右）在第12週、第26週、第38週和第52週時相對於基線的身體功能變化之患者報告結果測量資訊系統（PROMIS）。

【0078】 [圖31]描繪了總群體（左）和經歷過ERT的群體（右）在第12週、第26週、第38週和第52週時疲勞相對於基線變化之PROMIS。

【0079】 [圖32]描繪了總群體（左）和經歷過ERT的群體（右）在第12週、第26週、第38週和第52週時肌酸激酶（CK）生物標誌物相對於基線之變化。

【0080】 [圖33]描繪了總群體（左）和經歷過ERT的群體（右）在第12週、第26週、第38週和第52週時尿己糖四糖（Hex4）生物標誌物相對於基線之變化。

【0081】 [圖34]顯示了總群體（左）和經歷過ERT的群體（右）的主要、次要和生物標誌物終點熱圖。AT-GAA組：接受ATB200/麥格司他治療的受試者；阿葡糖苷酶α組：接受阿葡糖苷酶α/安慰劑治療的受試者。

【0082】 [圖35]總結了ATB200-03研究之安全性數據。AT-GAA組：接受ATB200/麥格司他治療的受試者；阿葡糖苷酶α組：接受阿葡糖苷酶α/安慰劑治療的受試者。TEAE：治療中出現的不良事件；IAR：輸注相關反應。

【0083】 [圖36]總結了ATB200-03研究之結果。

【0084】 [圖37]描述了ATB200-03研究之研究目標和統計方法。

【0085】 [圖38]描述了ATB200-03研究之主要終點和次要終點。

【0086】 [圖39]總結了ATB200-03研究之患者處置。

【0087】 [圖40]總結了ATB200-03研究之基線群體統計特徵。

【0088】 [圖41]顯示了ATB200-03研究中總群體（n = 122）（A組）和經歷過ERT的患者（n = 95）（B組）中根據基線狀態對6MWD和FVC相對於基線的變化進行的亞組分析。

【0089】 [圖42]顯示了ATB200-03研究中任何組中≥ 10%患者中的治療中出現的不良事件（TEAE）之列表。

【0090】 [圖43]顯示了I/II期ATB200-02研究之研究設計。星號表示之前的ERT係使用20 mg/kg阿葡糖苷酶α Q2W。Q2W，每2週

【0091】 [圖44]顯示了針對ATB200-02研究報告的終點和佇列（Cohort）之總結。

【0092】 [圖45]顯示了ATB200-02研究之基線特徵和患者處置。星號表示1名ERT初治患者在進入研究前 > 6個月接受了1劑阿葡糖苷酶α。M表示米；M:F表示男女比例；N/A表示不適用；SD表示標準差。

【0093】 [圖46A-圖46D]顯示了ATB200-02研究中經歷過ERT的受試者（圖46A、46C）和ERT初治受試者（圖46B、46D）的6分鐘步行距離（6MWD）隨時間推移相對於基線（CFBL）之平均變化。

【0094】 [圖47A-圖47B]顯示了ATB200-02研究中經歷過ERT的受試者（圖47A）和ERT初治受試者（圖47B）的預測坐姿用力肺活量（FVC）百分比隨時間推移相對於基線（CFBL）之平均變化。

【0095】 [圖48A-圖48B]顯示了在ATB200-02研究中經歷過ERT的受試者（圖48A）和ERT初治受試者（圖48B）中徒手肌力測試（MMT）下肢得分隨時間相對於基線（CFBL）之平均變化。

【0096】 [圖49A-圖49B]顯示了ATB200-02研究中經歷過ERT的受試者和ERT初治受試者的尿己糖四糖（Hex4）水平（圖49A）和血漿肌酸激酶（CK）水平（圖49B）相對於基線（CFBL）之平均變化百分比。

【0097】 [圖50]顯示了ATB200-02研究中治療中出現的不良事件（TEAE）之總結。星號表示彌漫性大B細胞淋巴瘤。IAR表示輸注相關反應；TEAE係指治療中出現的不良事件，發病日期在研究藥物首次給藥時或之後。

【0098】 [圖51]顯示了西帕葡糖苷酶α/麥格司他和艾夫糖苷酶α對經歷過ERT的受試者中6MWD和預測FVC（坐姿）百分比相對於基線的變化的長期影響之比較。

【0099】 [圖52]顯示了西帕葡糖苷酶α/麥格司他和艾夫糖苷酶α對ERT初治受試者中6MWD和預測FVC（坐姿）百分比相對於基線的變化的長期影響之比較。

【0100】 [圖53A-圖53B]顯示了在用阿葡糖苷酶α治療經歷過ERT的受試者期間預測的6分鐘步行測試（6MWT）百分比。圖53B顯示了從圖53A僅從第2年開始重新繪製之數據。

【0101】 [圖54]顯示了在用阿葡糖苷酶α治療經歷過ERT的受試者期間預測之FVC百分比。

【0102】 [圖55]顯示了ATB200-02研究的佇列2（不能行走的經歷過ERT的患者）的終點和佇列之總結。

【0103】 [圖56]顯示了ATB200-02研究的佇列2（不能行走的經歷過ERT的患者）之基線特徵和患者處置。星號表示基線評估係在研究藥物首個劑量（20 mg/kg西帕葡糖苷酶α + 260 mg 麥格司他共同投與劑量）投與時或之前的最後一個非缺失結果。M : F表示男女比例；SD表示標準差。

【0104】 [圖57]顯示了佇列2（不能行走的經歷過ERT的患者）中預測的坐

姿用力肺活量（FVC）百分比隨時間相對於基線（CFBL）之平均變化。

【0105】[圖58]顯示了ATB200-02研究中佇列2（不能行走的經歷過ERT的患者）的治療中出現的不良事件（TEAE）之總結。星號表示蕁麻疹被認為係IAR。IAR表示輸注相關反應；TEAE係指治療中出現的不良事件，發病日期在研究藥物首次給藥時或之後。

【0106】[圖59]顯示了系統文獻回顧（SLR）鑒定的七項臨床研究之基線特徵

【0107】[圖60]顯示了對於每個確定的研究，當從基線改變時，6MWD（m）和FVC（%預測）的縱向功效結果相比於試驗。

【0108】[圖61]顯示了6MWD（m）和坐姿FVC（%預測）之網路。

【0109】[圖62]顯示了基本情況情景（主要分析）中6MWD的相對效果估計之森林圖，具有95%的置信區間。

【0110】[圖63]顯示了基本情況情景（主要分析）中FVC的相對效果估計的森林圖，具有95%的置信區間。

【0111】[圖64]顯示了根據ERT持續時間對6MWD的相對效果估計之森林圖，具有95%的置信區間。

【0112】[圖65]顯示了根據ERT持續時間對FVC的相對效果估計之森林圖，具有95%的置信區間。

【0113】[圖66]顯示了基本情況情景（敏感性分析）中6MWD的相對效果估計之森林圖，具有95%的置信區間。

【0114】[圖67]顯示了基本情況情景（敏感性分析）中FVC的相對效果估計之森林圖，具有95%的置信區間。

【0115】[圖68]顯示了ATB200-07研究之研究設計和患者處置。

【0116】[圖69]總結了ATB200-07研究之基線群體統計特徵。

【0117】[圖70A-70B]顯示了ATB200-07研究中經歷過ERT的患者和ERT初治患者的預測6MWD%（圖70A）和6MWD%（圖70B）相對於基線之平均變化。

【0118】[圖71]顯示了ATB200-07研究中經歷過ERT的患者和ERT初治患者的預測FVC%相對於基線之平均變化

【0119】[圖72]顯示了ATB200-07研究中經歷過ERT的患者和ERT初治患者的血清CK相對於基線之平均變化

【0120】[圖73]顯示了ATB200-07研究中經歷過ERT的患者和ERT初治患者的尿Hex4相對於基線之平均變化。

【0121】[圖74]顯示了ATB200-07研究之安全性總結。

【0122】[圖75]係顯示了阿葡糖苷酶α和三種西帕葡糖苷酶α製劑的藉由LC-FLD分析鑒定的2-AA標記的N-聚糖分佈之圖。

【0123】[圖76A]描繪了模擬處理的阿葡糖苷酶α、模擬處理的西帕葡糖苷酶α和紫色酸性磷酸酶（PAP）處理的西帕葡糖苷酶α的西方墨點法之蛋白質載入對照。圖76B顯示了描繪76A中所示樣本的GAA蛋白質水平的西方墨點法。76C顯示了遠西方墨點法（far-western blot）的變體，以確定76A中樣本的CIMPR結合。76D係顯示76A中所示樣本的4MU-α-葡糖苷酶活性之圖。

【0124】[圖77A]係顯示在各種rhGAA濃度下骨骼肌成肌細胞內內化的rhGAA攝取之圖。圖77B比較了在20nM GAA濃度下模擬處理的阿葡糖苷酶α、模擬處理的西帕葡糖苷酶α和PAP處理的西帕葡糖苷酶α在龐貝氏病患者衍生的成纖維細胞中之GAA活性。圖77C係描繪攝取後圖77B中所示的細胞裂解物的GAA含量之西方墨點法。

【0125】[圖78]的圖顯示長期西帕葡糖苷酶α投與（20 mg/kg，12次雙週推注）相比於阿葡糖苷酶α按平均最小纖維直徑（FD）對Gaa KO小鼠股四頭肌的

肌纖維大小之影響。

【0126】 [圖79]說明了研究ATB200-02之設計示意圖。

【0127】 [圖80]說明了研究ATB200-03之設計示意圖。

【0128】 [圖81]係研究ATB200-03中不包括受試者4005-2511的ERT初治群體的MMT下肢得分隨時間(ITT-LOCF群體)相對於基線的變化之LS平均值(SE)的線圖。

【0129】 [圖82]係研究ATB200-03中不包括受試者4005-2511的ERT初治群體的PROMIS-身體功能總得分隨時間(ITT-LOCF群體)相對於基線的變化的LS平均值(SE)之線圖。

【0130】 [圖83]係研究ATB200-03中不包括受試者4005-2511的ERT初治群體的PROMIS-疲勞總得分(ITT-LOCF群體)變化的LS均值(SE)之線圖。

【0131】 [圖84]係研究ATB200-03中不包括受試者4005-2511的ERT初治群體的GSGC總得分隨時間(ITT-LOCF群體)相對於基線的變化的LS平均值(SE)之線圖。

【0132】 [圖85]的橫條圖總結了研究ATB200-03中ITT群體(不包括離群值受試者4005-2511)之所有終點。

【0133】 [圖86]的橫條圖說明了研究ATB200-03中與基線相比在第52週之SGIC整體身體健康狀況。

【0134】 [圖87A]的橫條圖說明了在研究ATB200-03中按合併範圍分組(ITT-LOCF,不包括受試者4005-2511)的在第52週在6MWD(米)方面相對於基線有變化之受試者比例。圖87B的橫條圖說明了在研究ATB200-03中按合併範圍分組(ITT-LOCF,不包括受試者4005-2511)的在第52週在坐姿預測FVC%方面相對於基線有變化之受試者比例。圖87C的橫條圖說明了在研究ATB200-03中在第52週(ITT-LOCF不包括受試者4005-2511)對6MWD和預測FVC%具有綜合

反應之受試者比例。

【0135】[圖88]係研究ATB200-07提供的不包括受試者4005-2511的OLE-ES群體的6MWD（米）隨時間相對於研究ATB200-03基線的變化的平均值（±SE）之線圖。

【0136】[圖89]係研究ATB200-07提供的不包括受試者4005-2511的OLE-ES群體的坐姿預測FVC%隨時間相對於研究ATB200-03基線的變化的平均值（±SE）之線圖。

【0137】[圖90A]係研究ATB200-07提供的不包括受試者4005-2511的OLE-ES群體的CK（U/L）隨時間相對於研究ATB200-03基線的變化的平均值（±SE）之線圖。圖90B係研究ATB200-07提供的不包括受試者4005-2511的OLE-ES群體的Hex4（mmol/mol肌酸酐）隨時間相對於研究ATB200-03基線的變化的平均值（±SE）的線圖。

【實施方式】

【0138】本文提供了用於治療龐貝氏病之方法，該等方法包括向個體投與重組人α-葡糖苷酶（rhGAA）和酶穩定劑，其中該方法提供長期益處（例如，運動功能、肌肉力量和/或肺功能的改善和/或穩定）。本文提供之方法還具有良好的安全性。本文提供之方法的長期益處係對目前用於治療龐貝氏病的酶替代療法（ERT）選項的改善。

【0139】目前用於治療龐貝氏病的ERT選項在有限的時間內提供改善，然後緩慢衰退。2012年，對在遲發性龐貝氏病（LOPD）受試者中進行的所有研究進行了系統回顧（Toscano和Schoser, (2013) *J Neurol* [神經病學雜誌] 260, 951-959）。該回顧包括來自已發表研究的368名LOPD受試者的數據，其中包括

27名青少年受試者（年齡範圍：2至17歲）和接受阿葡糖苷酶α治療至少2年的251名成年受試者。結果表明，> 30%的受試者在使用阿葡糖苷酶α治療期間並未表現出初步改善，並且儘管接受了治療，但肌肉和呼吸功能仍持續惡化。在最初對阿葡糖苷酶α治療有反應的受試者組中，另外幾項長期研究表明，改善通常只持續大約2年。此後，受試者通常在開始逐漸衰退之前處於平穩狀態。

【0140】 2012年，作為英國國家健康研究所的一部分的英國健康技術評估計畫（Wyatt等人, (2012) Health Technol Assess [健康技術評估] 16(39)）根據對接受了目前獲批的ERT標準護理-阿葡糖苷酶α的81例龐貝氏病患者（包括嬰幼兒型和遲發型（兒童和成人））的縱向數據進行的回顧，發佈了相關建議。對龐貝氏病進展的關鍵標誌物（用力肺活量、通氣依賴性、活動能力、6分鐘步行測試、肌肉力量和體重指數）進行了評估，並建立了與阿葡糖苷酶α療法的治療時間相關的模型。該評估結果表明，在開始使用阿葡糖苷酶α進行ERT治療後的頭2年內，LOPD患者的FVC、6分鐘步行距離和肌肉力量均有所改善，而在此時間範圍之後繼續治療則出現衰退。此外，一項針對38名接受阿葡糖苷酶α治療的LOPD受試者的為期3年的研究表明，受試者的運動功能在治療的第一年顯示出改善，第二年保持總體穩定，並且第三年開始衰退（Regnery等人, (2012) Journal of Inherited Metabolic Disease[遺傳性代謝疾病雜誌] 35: 837-845）。

【0141】 此外，一份提供對LUMIZYME®（賽諾菲健贊公司（Sanofi Genzyme））3期研究的10年跟蹤的報告表明，在治療的最初幾年中，受試者的運動和肺功能有所改善，之後，隨著持續的治療，受試者開始緩慢衰退（van der Ploeg等人, (2017) European journal of neurology[歐洲神經病學雜誌] 24.6: 768-e31）。在這項研究中，從接受治療的第3年到第6年，預測的基線6分鐘步行距離的百分比平均衰退了約10%，其中約80%的受試者經歷了衰退。

【0142】 阿葡糖苷酶α最嚴重的耐受性問題係輸注相關反應（IAR）的發生，

在某些情況下可能包括危及生命的過敏反應或其他嚴重的過敏反應（MYOZYME®Summary of Product Characteristics[產品特性總結]，2018年12月）。該等事件的管理包括減少劑量、降低輸注速率和延長輸注時間，以及劑量中斷或中止。抗組胺藥和類固醇的術前用藥（輸注前）也經常用於預防和減少與阿葡糖苷酶α輸注相關的IAR和超敏反應的發生和嚴重程度。儘管採取了該等措施，龐貝氏病患者仍可能會經歷IAR，並且一些患者無法耐受目前批准的ERT的常規輸注。

【0143】 2017年，歐洲龐貝氏病協會（European Pompe Consortium）對文獻進行了系統回顧，該協會係一個由來自11個歐洲國家的龐貝氏病領域的專家組成的網路（van der Ploeg等人, (2017) *European journal of neurology*[歐洲神經病學雜誌] 24.6: 768-e31）。根據從一項臨床研究和43項觀察性研究中獲得的數據（共涵蓋586名成年受試者），協會評估了ERT在組水平上的影響的證據。目前歐洲龐貝氏病協會的共識係，一旦發生嚴重的IAR或疾病症狀進行性臨床惡化，以及出現高中和性抗體（Ab）滴定度（這將有效地使現有的ERT治療失效），則中止ERT療法。歐洲龐貝氏病協會的共識建議還包括如果在ERT停止後疾病進展和臨床惡化再次發生，則考慮重新開始ERT治療。

【0144】 rhGAA分子的細胞攝取由專門的碳水化合物甘露糖-6-磷酸（M6P）促進，M6P與存在於靶細胞（如肌肉細胞）上的陽離子非依賴性甘露糖-6-磷酸受體（CIMPR）結合。結合後，rhGAA分子被靶細胞吸收，隨後被轉運到細胞內的溶酶體中。然而，大多數常規rhGAA產品缺乏高總含量的帶有單-M6P和雙-M6P的N-聚糖（即，分別為帶有一個M6P殘基的N-聚糖或帶有兩個M6P殘基的N-聚糖），這限制了它們藉由CIMPR和溶酶體遞送被細胞攝取，從而使得傳統的酶替代療法不夠有效。例如，雖然20 mg/kg或更高劑量的常規rhGAA產品確實可以改善龐貝氏病的一些方面，但除其他外，它們無法充分地 (i) 治療潛在

的細胞功能障礙；(ii) 恢復肌肉結構；或 (iii) 減少許多靶組織（諸如骨骼肌）中積累的肝醣，以逆轉疾病進展。此外，更高的劑量對受試者以及治療受試者的醫學專業人員施加額外的負擔，如延長靜脈內投與rhGAA所需的輸注時間。

【0145】GAA或rhGAA的醣基化可以藉由磷酸轉移酶和坎菲爾德（Canfield）等人，美國專利案號6,534,300所描述的揭酶（uncovering enzyme）在體外進行酶促修飾以產生M6P基團。然而，酶醣基化不能被充分控制，並且可以產生具有不期望的免疫學性質和藥理學性質的rhGAA。經酶促修飾的rhGAA可能只含有高甘露糖寡糖，所有該等高甘露糖寡糖都可以潛在地在體外用磷酸轉移酶或揭酶（uncovering enzyme）進行酶促磷酸化。藉由對GAA進行體外酶處理而產生的醣基化模式係有問題的，因為額外的末端甘露糖殘基，特別是非磷酸化的末端甘露糖殘基負面影響經修飾的rhGAA的藥物動力學。當在體內投與此類酶促修飾的產物時，該等甘露糖基團增加了GAA的非生產性清除，增加了免疫細胞對酶促修飾的GAA的攝取，並且由於更少的GAA到達靶組織（如骨骼肌肌細胞）而降低了rhGAA治療功效。例如，末端非磷酸化甘露糖殘基係肝和脾中的甘露糖受體的已知配體，其導致酶促修飾的rhGAA的快速清除和rhGAA對靶組織的靶向降低。此外，具有含末端非磷酸化甘露糖殘基的高甘露糖N-聚糖的酶促修飾的GAA的醣基化模式類似於酵母和黴菌中產生的糖蛋白上的醣基化模式，並且增加了引發對酶促修飾的rhGAA的免疫或過敏反應（如危及生命的嚴重過敏（過敏性）或超敏反應）的風險。

【0146】與常規重組rhGAA產品和體外磷酸化rhGAA相比，根據本揭露之雙組分療法中使用的rhGAA具有優化的N-聚糖譜，用於增強生物分佈和溶酶體攝取，從而使投與後rhGAA的非生產性清除最小化。本揭露為穩定或惡化的龐貝氏病患者提供了一種在細胞水平上逆轉疾病進展的有效療法 — 包括比目前的標準護理更有效地清除溶酶體肝醣。用包含rhGAA和酶穩定劑（例如，麥格司

他）的本揭露之雙組分療法治療的患者表現出顯著的健康改善，包括肌肉力量、運動功能和/或肺功能的改善和/或穩定，和/或包括疾病進展的逆轉。

【0147】此外，三項隨機臨床試驗（LOTS：阿葡糖苷酶α相比於安慰劑；COMET：艾夫糖苷酶α相比於阿葡糖苷酶α；和PROPEL：西帕葡糖苷酶α/麥格司他相比於阿葡糖苷酶α）的比較共用作為主要或次要終點的6MWD和預測FVC%。使用來自PROPEL隨機臨床試驗（RCT）的患者水平數據加上來自其他RCT、I/II期和開放標籤擴展試驗的匯總已發表數據，進行了多層次網路元回歸，調整了各種基線協變數，包括之前的ERT持續時間。基本情況情景的協變數類似於PROPEL群體（初治和經歷過ERT），並分析了52週時6MWD和FVC相對於基線的變化。在6MWD和FVC方面，西帕葡糖苷酶α/麥格司他比阿葡糖苷酶α和艾夫糖苷酶α更有利，其中6MWD相對效果分別為16.3米（95%置信區間：9.6-24.3）和29.5米（7.4-52.6），並且FVC相對效果分別為3.1%（2.4-3.8）和2.8%（1.0-4.6）。對於初治受試者，西帕葡糖苷酶α/麥格司他的相對影響對於兩個終點仍然顯著，除了對於FVC西帕葡糖苷酶α/麥格司他相比於Aval：0.4%（-0.8-1.7）。該等發現表明，對於LOPD患者在關鍵運動和呼吸終點方面，尤其是在經歷過ERT的群體中，西帕葡糖苷酶α/麥格司他可能具有臨床差異。

## 定義

【0148】在本說明書中使用的術語在本揭露之上下文中以及在使用每個術語的特定上下文中通常具有其在本領域中的普通含義。下文或說明書中的其他地方討論了某些術語，以在描述本揭露之組成物和方法以及如何製備和使用它們時向從業者提供額外的指導。冠詞「一個/種（a和an）」係指一個/種或多於一個/種（即，至少一個/種）該冠詞的語法賓語。除非上下文另有明確說明，否則術語「或」係指術語「和/或」，並且可與術語「和/或」互換使用。在本申

請中，單數的使用包括複數，除非另外明確說明。此外，術語「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。本文描述的任何範圍將被理解為包括端點和端點之間的所有值。在本說明書中，除非上下文需要，否則歸因於表現語言或必要的含義，詞語「包含（comprises）」，或變化形式如「包含（comprising）」係以包容性的意義使用，即用於指明所述特徵的存在，但是不排除在本揭露之不同實施方式中存在或添加的其他特徵。

【0149】 術語「GAA」係指人酸性α-葡糖苷酶（GAA）（催化溶酶體肝醣的α-1,4-糖苷鍵和α-l,6-糖苷鍵的水解的酶），以及係指GAA胺基酸序列的插入、相關或取代變體以及發揮酶活性的更長GAA序列的片段。人酸性α-葡糖苷酶係由GAA基因（美國國家生物技術資訊中心（NCBI）基因ID 2548）編碼的，該基因已經被定位至染色體17的長臂上（位置17q25.2-q25.3）。GAA的示例性胺基酸序列係NP 000143.2，其藉由引用併入。本揭露還包括編碼NP 000143.2的胺基酸序列的DNA序列。目前已經在人類GAA基因中鑒定了超過500個突變，其中的許多突變與龐貝氏病有關。導致該酸性α-葡糖苷酶的錯折疊或錯加工的突變包括T1064C（Leu355Pro）和C2104T（Arg702Cys）。另外，影響酶的成熟和加工的GAA突變包括Leu405Pro和Met519Thr。在胺基酸殘基516-521處的保守六肽WIDMNE（SEQ ID NO: 7）對於酸性α-葡糖苷酶蛋白的活性係必需的。如本文中所使用，縮寫「GAA」旨在意指人酸性α-葡糖苷酶，然而斜體縮寫「*GAA*」旨在意指編碼人酸性α-葡糖苷酶的人類基因。斜體縮寫「*Gaa*」旨在意指編碼非人酸性α-葡糖苷酶類的非人類基因，包括但不限於大鼠或小鼠基因，並且縮寫「Gaa」旨在意指非人酸性α-葡糖苷酶類。

【0150】 術語「rhGAA」旨在意指重組人酸性α-葡糖苷酶並用於區分合成和/或重組產生的GAA（例如，從CHO細胞或用編碼GAA的DNA轉化的其他宿主

細胞產生的GAA）與內源性GAA。因此，rhGAA不包括內源性GAA。術語「rhGAA」涵蓋單個rhGAA分子的群體。本文提供了rhGAA分子群的特徵。術語「常規rhGAA產品」旨在指含有阿葡糖苷酶α的產品，例如LUMIZYME®或MYOZYME®，或艾夫糖苷酶α，例如NEXVIAZYME®。

【0151】術語「遺傳修飾的」或「重組的」係指在引入包括編碼基因產物的編碼序列的核酸、連同控制編碼序列表現的調節元件後，表現特定基因產物（如rhGAA）的細胞（如CHO細胞）。核酸的引入可以藉由本領域已知的任何方法來完成，包括基因靶向和同源重組。如本文所用，該術語還包括已經工程化（例如藉由基因活化技術）以表現或過表現通常由這種細胞不能正常表現的內源基因或基因產物的細胞。

【0152】如本文中所使用，術語「阿葡糖苷酶α」旨在意指被鑒定為[199-精胺酸,223-組胺酸]先質原-α-葡糖苷酶（人）的重組人酸性α-葡糖苷酶；化學文摘登記號420794-05-0。阿葡糖苷酶α被批准在美國由賽諾菲健贊公司銷售，作為產品LUMIZYME®和MYOZYME®。

【0153】如本文所用，術語「艾夫糖苷酶α」旨在指鑒定為艾夫糖苷酶α-ngpt的重組人酸性α-葡糖苷酶；化學文摘登記號1802558-87-7。艾夫糖苷酶α被批准在美國由賽諾菲健贊公司銷售，作為產品NEXVIAZYME®。

【0154】如本文所用，術語「ATB200」意指在國際專利申請案號PCT/2015/053252、美國專利案號10,208,299和美國專利案號10,961,522（其揭露內容藉由引用以其整體併入本文）中描述的重組人酸性α-葡糖苷酶，。ATB200也稱為「西帕葡糖苷酶α」。在一些實施方式中，「ATB200」係指具有高含量的帶有單-M6P和雙-M6P的N-聚糖的rhGAA，其由GA-ATB200細胞系產生並使用本文所述之方法純化。

【0155】如本文所用，術語「聚糖」旨在係指共價結合至蛋白質或多肽上

的胺基酸殘基的寡糖。如本文所用，術語「N-聚糖」或「N-聯聚糖」旨在係指藉由共價結合至天冬醯胺殘基的氮原子而附接至蛋白質或多肽上的天冬醯胺殘基的多糖鏈。在一些實施方式中，附接到rhGAA的N-聚糖單元可以藉由液相層析-串聯質譜（LC-MS/MS），利用儀器，如賽默科技™（Thermo Scientific™）Orbitrap Velos Pro™質譜儀、賽默科技™ Orbitrap Fusion™ Lumos Tribid™質譜儀或沃特斯（Waters）Xevo® G2-XS QTof質譜儀來確定。

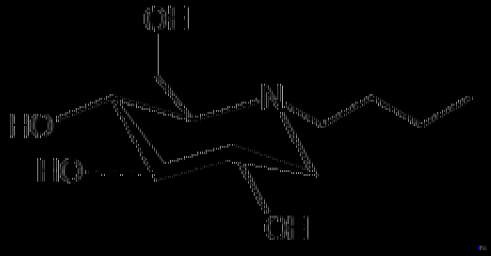
如本文所用，術語「帶有單-M6P的聚糖」或「帶有雙-M6P的聚糖」意指作為所有N-聚糖類型的一部分的單磷酸化（單-M6P）或雙磷酸化（雙-M6P）的N-聚糖單元，除非特別說明係高甘露糖N-聚糖類型或雜合N-聚糖類型。

[0156] 如本文所用，用力肺活量或「FVC」係在受試者進行盡可能深的呼吸後可以從受試者的肺部用力呼出的空氣量。

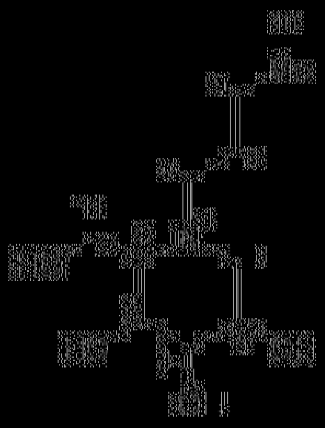
[0157] 如本文所用，「六分鐘步行測試」（6MWT）係一種測試，用於測量個體在堅硬平坦表面上總共能夠步行六分鐘的距離。測試係藉由讓個體在六分鐘內走盡可能遠的距離來進行的。

[0158] 如本文所用，「十米步行測試」（10MWT）係用於測量穿著步行鞋的個體在平坦表面上步行十米所花費的時間的測試。

[0159] 如本文所用，化合物麥格司他（miglustat），也稱為N-丁基-1-去氧野尻黴素或NB-DNJ或(2R,3R,4R,5S)-1-丁基-2-(羥甲基)哌啶-3,4,5-三醇，係具有以下化學式的化合物：



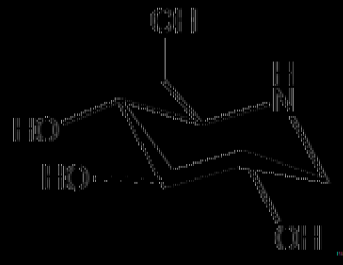
可替代地顯示為：



[0160] 麥格司他的一種配製物作為針對1型戈謝病的單一療法在商品名ZAVESCA®下進行商業銷售。在一典實施方式中，麥格司他被稱為AT2221。

[0161] 如下討論，麥格司他的藥學上可接受的鹽也可以用於本揭露。當使用麥格司他的鹽時，將調整該鹽的劑量，這樣使得患者接受的麥格司他的劑量與使用麥格司他游離鹼時接受的量係相當的。

[0162] 如本文所用，化合物去氧野尻黴素（duvoglustat），又稱為1-去氧野尻黴素或DNJ或(2R,3R,4R,5S)-2-(羥甲基)哌啶-3,4,5-三醇，係具有以下化學式的化合物：



[0163] 如本文所用，術語「酶穩定劑」旨在指特異性結合酸性α-葡糖苷酶並具有以下一種或多種作用的分子：

- 增強蛋白質的穩定分子構象的形成；
- 增強蛋白質從內質網到另一個細胞位置，較佳的是天然的細胞位置的適當運輸，以便於防止蛋白質的內質網相關降解；
- 防止構象不穩定或錯誤折疊的蛋白質的聚集；
- 恢復和/或增強蛋白質的至少部分的野生型功能、穩定性，和/或活性；

- 改善具有酸性α-葡糖苷酶的細胞的表型或功能；和/或
- 穩定體外和/或體內（例如，在患者的血液中）酸性α-葡糖苷酶。

【0164】酶穩定劑有時也被稱為「藥理學伴侶」。

【0165】因此，酸性α-葡糖苷酶的酶穩定劑係結合酸性α-葡糖苷酶，導致酸性α-葡糖苷酶的適當的折疊、運輸、非聚集和/或活性的分子。在至少一個實施方式中，酶穩定劑係麥格司他。酸性α-葡糖苷酶的酶穩定劑的另一個非限制性實例係去氧野尻黴素。

【0166】如本文中所使用，術語「藥學上可接受的」旨在指代當投與給人類時，生理上可耐受的，並且通常不會產生不良反應的分子實體以及組成物。較佳的是，如本文所使用的，術語「藥學上可接受的」意指由聯邦或州政府的管理機構批准的或在美國藥典或用於動物（更特別地用於人）的其他公認的藥典中列出的。如本文中所使用，術語「載劑」旨在指代與化合物一起投與的稀釋劑、助劑、賦形劑、或媒劑。適合的藥物載劑係本領域已知的，並且在至少一個實施方式中，其描述於E. W. Martin的「Remington's Pharmaceutical Sciences [雷明頓藥物科學]」，第18版，或其他版本。

【0167】如本文所用，術語「藥學上可接受的鹽」旨在意指在合理醫學判斷的範圍內，適合與人類和低等動物的組織接觸使用而無不當毒性、刺激、過敏反應等，與合理的效益/風險比相稱的，通常是水或油可溶的或可分散的，並且對於它們的預期用途有效的鹽。術語包括藥學上可接受的酸加成鹽以及藥學上可接受的鹼加成鹽。適合的鹽的列表發現於，例如，S. M. Berge等人，J. Pharm. Sci.[藥物科學雜誌]，1977，66，第1-19頁，藉由引用併入本文。本文所用的術語「藥學上可接受的酸加成鹽」意指那些保留游離鹼的生物有效性和性質並且在生物學上或其他方面不是不期望的與無機酸形成的鹽。本文所用的術語「藥學上可接受的鹼加成鹽」意指那些保留游離酸的生物學有效性和性質並且在生

物學上或其他方面不是不期望的與無機鹼形成的鹽。

【0168】如本文所用，術語「緩衝液」係指含有弱酸及其共軛鹼或弱鹼及其共軛酸的溶液，其有助於防止pH變化。

【0169】如本文中所使用，術語「治療有效劑量」和「有效量」旨在意指足夠導致受試者治療反應的酸性α-葡糖苷酶的量、和/或麥格司他的量、和/或其雙組分療法的量。

【0170】治療反應還可能包括分子反應，例如肝醣累積、溶酶體增殖和自噬區的形成。可以藉由比較用本文描述的rhGAA治療前後肌肉生檢的生理和分子反應來評估治療反應。例如，生檢樣本中存在的肝醣量可用作確定治療反應的標誌物。另一個實例包括生物標誌物，例如溶酶體相關蛋白1（LAMP-1）、微管相關蛋白*1*輕鏈3（LC3）和戴斯富林蛋白，它們可以用作溶酶體儲存功能障礙的指標。其他生物標誌物包括肌肉損傷或損害的生物標誌物，例如肌酸激酶（CK）、乳酸脫氫酶（LDH）、丙胺酸胺基轉移酶（ALT）和天冬胺酸胺基轉移酶（AST），和/或肝醣累積的標誌物，例如尿己糖四糖（Hex4）。例如，在用本文描述的rhGAA治療之前和之後收集的肌肉生檢可以用識別生物標誌物之一的抗體染色。治療反應還可以包括疲勞的減輕或其他患者報告的結果（例如，日常生活活動、幸福感等）的改善。

【0171】如本文中所使用，術語「酶替代療法」或「ERT」旨在指代將非天然的、經純化的酶引入具有這種酶缺乏的個體中。投與的蛋白可以從自然來源或藉由重組表現而獲得。該術語也指將經純化的酶引入個體，該個體在其他情況下需要或受益於投與的經純化的酶。在至少一個實施方式中，這樣的個體患有酶缺乏。該引入的酶可以是在體外產生的經純化的重組酶，或從離體組織或體液例如像胎盤或動物奶，或從植物純化的蛋白質。

【0172】如本文所用，術語「雙組分療法」旨在係指同時地或依次投與兩

個或更多個個體化治療的任何療法。在一些實施方式中，與單獨進行每種療法時的效果相比，雙組分療法的結果係增強的。增強可以包括，與藉由單獨進行治療時所實現的結果相比，可以產生有利的結果的不同治療的效果的任何改進。增強效應或結果可以包括協同增強，其中增強效應高於單獨進行每種療法的相加效應；相加增強，其中增強效應實質上等於單獨進行每種療法的相加效應；或小於相加效應，其中增強效應低於單獨進行每種療法的相加效應，但是仍然好於單獨進行每種療法的效應。增強的效果可以藉由本領域已知的可以測量的治療功效或結果的任何手段來測量。

【0173】「龐貝氏病」係指以缺乏酸性α葡糖苷酶（GAA）活性為特徵的常染色體隱性LSD，該常染色體隱性LSD損害溶酶體肝醣代謝。酶缺乏導致溶酶體肝醣累積，並導致進行性骨骼肌無力、心臟功能降低、呼吸功能不全、和/或疾病晚期的CNS損傷。GAA基因中的遺傳突變導致較低的表現或產生具有改變的穩定性和/或最終導致疾病的生物活性的酶的突變體形式，（通常參見，赫希霍恩（Hirschhorn）R，1995，第二型肝醣儲積症：酸性a-葡糖苷酶（酸性麥芽糖酶）缺乏（Glycogen Storage Disease Type II: Acid a-Glucosidase (Acid Maltase) Deficiency），遺傳疾病的代謝和分子基礎（The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease），斯克裡維爾（Scriver）等人編輯，麥格勞希爾出版社（McGraw-Hill），紐約，第7版，第2443-2464頁）。龐貝氏病（嬰兒、兒童和成人）的三種公認的臨床形式與殘留的α-葡糖苷酶活性水平相關（雷烏謝爾（Reuser）A J等人，1995，肝醣貯積病II型（酸性麥芽糖酶缺乏症），肌肉和神經補充（Muscle & Nerve Supplement）3，S61-S69）。嬰兒龐貝氏病（I型或A型）係最常見和最嚴重的，特徵係在生命的第二年內不能茁壯成長、全身性低滲、心臟肥大和心肺功能衰竭。兒童龐貝氏病（II型或B型）的嚴重程度係中等的，並且特徵在於沒有心臟肥大的肌肉症狀的優勢。兒童龐貝氏病個體通常由於呼

吸衰竭而在達到20歲之前死亡。成人龐貝氏病（III型或C型）通常在青春期或最晚至第六十年呈現為緩慢進展性肌病（費利西亞（Felicia）K J等人，1995，成人發病酸性麥芽糖酶缺乏症的臨床變異：受影響同胞的報告和文學評論（Clinical Variability in Adult-Onset Acid Maltase Deficiency：Report of Affected Sibs and Review of the Literature），醫學（Medicine）74，131-135）。在龐貝氏病中，已經顯示α-葡糖苷酶在翻譯後藉由醣基化、磷酸化、以及蛋白水解加工而被大幅修飾。藉由溶酶體中的蛋白水解將110千道耳頓（kDa）先質轉化為76和70 kDa成熟形式係最佳肝醣催化所需的。如本文所用，術語「龐貝氏病」係指所有類型的龐貝氏病。本申請中公開的配製物和給藥方案可用於治療例如I型、II型或III型龐貝氏病。

【0174】 龐貝氏病現在被認為係連續的表型譜，臨床上最嚴重、快速進展的表型係典型的嬰兒型龐貝氏病（IOPD），較不嚴重、緩慢進展的表型係遲發性龐貝氏病（LOPD）。遲發性龐貝氏病可在兒童期或成年期出現，並且不會出現臨床上明顯的心臟受累（Leslie和Bailey，2017）。當發生在LOPD類別的兒科亞群中時，遲發性龐貝氏病通常被稱為青少年發病的龐貝氏病。與經典IOPD相比，LOPD的進展速度較慢，由於近端下肢和上肢的肌肉、脊柱旁肌肉和膈肌受累，大多數患者會出現進行性肢帶無力和呼吸衰竭。臨床表現包括行走困難、爬樓梯和日常生活的運動活動進展性受限，並發展為需要行走支持，然後依賴輪椅（Reuser等人，2001）。該疾病的臨床表現因呼吸系統受累而加重，最初表現為睡眠呼吸障礙和端坐呼吸（仰臥位呼吸急促）。龐貝氏病的進展性通常導致使用有創機械輔助通氣。生化異常包括血清肌酸激酶（CK）水平升高（肌肉損傷的生物標誌物）和尿己糖四糖（Hex4）水平升高（An, 等人2005; Young, 等人2009）。LOPD患者的預期壽命可以從兒童早期到成年晚期，具體取決於發病年齡、疾病進展速度、呼吸肌受累程度和合併症的存在（Hagemans等人，2004）。

如果不進行治療，患有龐貝氏病的成年人的預期壽命會大大縮短（Gungor等人，2011年）。

【0175】如本文所用，「顯著」係指統計顯著性。該術語指的是兩個治療組之間存在差異的統計證據。它可以定義為當零假設實際上為真時做出拒絕零假設決定的概率。通常使用從適當的比較統計分析得出的p值 < 0.05來做出決定。參見，例如，實例9。

【0176】「受試者」或「患者」較佳的是係人，儘管也可以治療患有關於肝醣累積的病症的其他哺乳動物和非人動物。受試者可以是患有龐貝氏病或其他肝醣貯積或積累障礙的胎兒、新生兒、幼兒、兒童或成人。被治療個體的一個實例係患有GSD-II（例如嬰兒GSD-II、兒童GSD-II、或成人發病GSD-II）的個體（胎兒、新生兒、幼兒、兒童、青少年或成年人）。該個體可以具有殘留的GAA活性，或沒有可測量的活性。例如，患有GSD-II的個體可以具有小於約1%正常GAA活性（嬰兒GSD-II）的GAA活性、約1%-10%正常GAA活性（兒童GSD-II）的GAA活性、或約10%-40%正常GAA活性（成人GSD-II）的GAA活性。在一些實施方式中，受試者或患者係「經歷過ERT」或「轉換ERT」的患者，指的是先前接受過酶替代療法的龐貝氏病患者。在一些實施方式中，「經歷過ERT」或「ERT轉換」患者係已經接受或目前正在接受阿葡糖苷酶α超過或等於24個月的龐貝氏病患者。在一些實施方式中，「經歷過ERT」或「ERT轉換」的患者係龐貝氏病患者，其在用目前批准的ERT（例如，MYOZYME®或LUMIZYME®）時正在惡化。在一些實施方式中，受試者係確診為遲發性龐貝氏病（酸性α-葡糖苷酶（GAA）缺乏症）的成年患者（例如，18歲或以上），他們之前接受過酶替代療法（ERT）。在一些實施方式中，受試者係患有遲發性龐貝氏病（溶酶體酸性α-葡糖苷酶[GAA]缺乏症）的體重≥ 40 kg的成年人（例如，18歲及以上），他們的疾病在用酶替代療法（ERT）時進展。在一些實施方式中，受試者或患者

係「ERT初治」的患者，指的是先前未接受過酶替代療法的龐貝氏病患者。在某些實施方式中，受試者或患者係能行走的（例如，能行走的ERT轉換患者或能行走的ERT初治患者）。在某些實施方式中，受試者或患者係不能行走的（例如，不能行走的ERT轉換患者）。可藉由六分鐘步行測試（6MWT）確定能行走或不能行走狀態。在一些實施方式中，能行走的患者係能夠在6MWT中行走至少200米的龐貝氏病患者。在一些實施方式中，不能行走的患者係無法獨立行走或坐輪椅的龐貝氏病患者。在一些實施方式中，受試者正在使用有效的避孕措施。在一些實施方式中，受試者和/或受試者的伴侶正在使用高效的避孕，例如在持續和正確使用時導致低失敗率（例如，每年< 1%）的避孕。高效避孕方法的實例包括但不限於：完全禁欲；與抑制排卵相關的聯合（含雌激素和孕激素）激素避孕；與抑制排卵相關的口服、陰道內、透皮僅含孕激素的激素避孕：口服、注射、植入式宮內節育器；宮內激素釋放系統；雙側輸卵管阻塞；和輸精管切除術。在一些實施方式中，受試者係絕經後的。在一些實施方式中，受試者不具有生育潛力。在一些實施方式中，受試者永久不育。在一些實施方式中，受試者未懷孕。在一些實施方式中，受試者未進行母乳餵養。

【0177】在一些實施方式中，患者基於以下至少一項的記錄被診斷為遲發性龐貝氏病：(1) GAA酶缺乏；和/或 (2) 編碼人酸性α-葡糖苷酶（GAA）基因分型的基因。在一些實施方式中，患者係18歲或以上。在一些實施方式中，患者之前接受過酶替代療法（ERT）。在一些實施方式中，患者正在接受當前批准的ERT（例如，MYOZYME®或LUMIZYME®）。在一些實施方式中，如果具有生殖潛力，男性和女性患者都同意在整個治療期間和最後一次給藥後長達90天內使用高效避孕方法。在一些實施方式中，正在用β2-受體促效劑或非選擇性β-受體阻滯劑（例如普萘洛爾、納多洛爾、卡維地洛）的患者維持適當並由治療醫師確定的穩定劑量。

【0178】如本文所用的術語「治療」（treat或treatment）係指與疾病相關的一種或多種症狀的改善，延遲疾病的一種或多種症狀的發病，和/或減輕疾病的一種或多種症狀的嚴重性或頻率。例如，治療可以是指心臟狀況的改進（例如，舒張末期和/或收縮末期容積的增加，或者通常在GSD-II中發現的進行性心肌病的減少或改善）或肺功能的改進（例如，超過基線能力的啼哭肺活量的增加，和/或在啼哭期間氧脫飽和的正常化）；神經發育和/或運動技能的改進（例如，AIMS評分的增加）；受疾病影響的個體的組織中的肝醣水平的降低；或該等效應的任何組合。在一個較佳的實施方式中，治療包括改進心臟狀況，具體是減少GSD-II相關性心肌病。

【0179】如本文所用，術語「改善」、「增加」和「減少」表示相對於基線測量值或來自對照治療的相應值（諸如在開始本文所述之治療之前在同一個體中的測量值、在不存在本文所述之治療的情況下在對照個體（或多個對照個體）中的測量值，或對照治療後的測量值）的值。對照個體係患有與被治療個體相同形式的GSD-II（嬰兒、兒童或成人發病）的個體，該對照個體與所治療個體的年齡大約相同（以確保在治療的個體和對照個體中的疾病階段係可比較的）。在一些實施方式中，對照治療包括投與阿葡糖苷酶α和酶穩定劑的安慰劑（參見實例9）。

【0180】如本文所用，短語「穩定運動功能」、「穩定肺功能」和類似術語係指減少或阻止運動和肺功能的衰退，和/或恢復運動和/或肺功能。由於預期未經治療的龐貝氏病患者運動功能和肺功能會隨著時間的推移而顯著衰退，因此運動和/肺功能惡化速率的增加和/或運動和/肺功能的增強證明了本文所述治療的益處。此外，由於經歷過ERT的龐貝氏病患者的運動和/或肺功能通常隨著時間的推移持續衰退，因此使用本文所述之療法穩定運動和/或肺功能可包括與接受先前ERT治療（例如，MYOZYME®或LUMIZYME®）的此類患者相比，

減少和/或阻止運動和/或肺功能的衰退。

【0181】如本文中所使用，術語「約」和「大約」旨在指代對於給定測量的性質或精度的測量的量而言可接受程度的誤差。例如，如本領域中所理解的，誤差的程度可以由為測量提供的有效數字的數值來指示，並且包括但不限於對於測量所報告的最精確的有效數字中±1的變化。典型的示例性誤差程度係在給定值或值範圍的20%（%）內，較佳的是在10%內，並且更較佳的是在5%內。除非另有說明，本文給出的數字量係近似的，意味著當沒有明確說明時，可以推斷出術語「約」或「大約」。

【0182】本文引用的所有參考文獻、文章、出版物、專利、專利出版物和專利申請均出於所有目的藉由引用以其整體併入。然而，對本文所引用的任何參考文獻、文章、出版物、專利、專利出版物和專利申請的提及不被視為並且不應當被視為對其構成有效的先前技術或形成世界上任何國家的公知常識的一部分的承認或任何形式的暗示。

【0183】在此使用的小節標題僅是為了編排的目的並且不應該被解釋為對所述主題進行限制。

***重組人酸性α-葡糖苷酶（rhGAA）***

【0184】在一些實施方式中，重組人酸性α-葡糖苷酶（rhGAA）係具有如SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、或SEQ ID NO:6中所示的胺基酸序列的酶。在一些實施方式中，rhGAA由如SEQ ID NO: 2中所示的核苷酸序列編碼。

**[表1]. 核苷酸序列和蛋白質序列**

| SEQ ID NO | 序列 |
|---|---|
| 1 | MGVRHPPCSHRLLAVCALVSLATAALLGHILLHDFLLVPRELSGSSPVLEETHPAHQQGA<br>SRPGPRDAQAHPGRPRAVPTQCDVPPNSRFDCAPDKAITQEQCEARGCCYIPAKQGLQGA<br>QMGQPWCFFPPSYPSYKLENLSSSEMGYTATLTRTTPTFFPKDILTLRLDVMMETENRLH |

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

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

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

| SEQ ID NO | 序列 |
|---|---|
| | IKDPANRRYEVPLETPHVHSRAPSPLYSVEFSEEPFGVIVRRQLDGRVLLNTTVAPLFFADQF<br>LQLSTSLPSQYITGLAEHLSPLMLSTSWTRITLWNRDLAPTPGANLYGSHPFYLALEDGGSAH<br>GVFLLNSNAMDVVLQPSPALSWRSTGGILDVYIFLGPEPKSVVQQYLDVVGYPFMPPYWGLGF<br>HLCRWGYSSTAITRQVVENMTRAHFPLDVQWNDLDYMDSRRDFTFNKDGFRDFPAMVQELHQG<br>GRRYMMIVDPAISSSGPAGSYRPYDEGLRRGVFITNETGQPLIGKVWPGSTAFPDFTNPTALA<br>WWEDMVAEFHDQVPFDGMWIDMNEPSNFIRGSEDGCPNNELENPPYVPGVVGGTLQAATICAS<br>SHQFLSTHYNLHNLYGLTEAIASHRALVKARGTRPFVISRSTFAGHGRYAGHWTGDVWSSWEQ<br>LASSVPEILQFNLLGVPLVGADVCGFLGNTSEELCVRWTQLGAFYPFMRNHNSLLSLPQEPYS<br>FSEPAQQAMRKALTLRYALLPHLYTLFHQAHVAGETVARPLFLEFPKDSSTWTVDHQLLWGEA<br>LLITPVLQAGKAEVTGYFPLGTWYDLQTVPVEALGSLPPPPAAPREPAIHSEGQWVTLPAPLD<br>TINVHLRAGYIIPLQGPGLTTTESRQQPMALAVALTKGGEARGELFWDDGESLEVLERGAYTQ<br>VIFLARNNTIVNELVRVTSEGAGLQLQKVTVLGVATAPQQVLSNGVPVSNFTYSPDTKVLDIC<br>VSLLMGEQFLVSWC |

【0185】在一些實施方式中，rhGAA具有如美國專利案號8,592,362中所述之SEQ ID NO: 1中所示的GAA胺基酸序列，並且具有GenBank登錄號AHE24104.1（GI：568760974）。在一些實施方式中，rhGAA具有如SEQ ID NO: 2中編碼的GAA胺基酸序列（具有GenBank登錄號Y00839.1的mRNA序列）。在一些實施方式中，rhGAA具有如SEQ ID NO: 3中所示的GAA胺基酸序列。在一些實施方式中，rhGAA具有如SEQ ID NO: 4中所示的GAA胺基酸序列，並且具有國家生物技術資訊中心（NCBI）登錄號NP_000143.2或UniProtKB登錄號P10253。

【0186】在一些實施方式中，rhGAA最初表現為具有如SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 4中所示的全長952個胺基酸序列的野生型GAA，並且rhGAA經歷去除一部分胺基酸（例如前56個胺基酸）的胞內加工。因此，由宿主細胞分泌的rhGAA可以具有比細胞內最初表現的rhGAA更短的胺基酸序列。在一些實施方式中，該更短的蛋白質可以具有在SEQ ID NO: 5中所示的胺基酸序列，其與SEQ ID NO: 1不同僅在於已經去除了SEQ ID NO: 1的包括訊息肽和先質肽的前56個胺基酸，因此產生具有896個胺基酸的蛋白質。在一些實施方式中，該更短的蛋

白質可以具有在SEQ ID NO: 6中所示的胺基酸序列，其與SEQ ID NO: 4不同僅在於已經去除了SEQ ID NO: 4的包括訊息肽和先質肽的前56個胺基酸，因此產生具有896個胺基酸的蛋白質。胺基酸數目的其他變化也是可能的，如相對由SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 6描述的胺基酸序列具有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或更多個缺失、取代和/或插入。在一些實施方式中，該rhGAA產物包括具有不同胺基酸長度的重組人酸性α-葡糖苷酶分子的混合物。

【0187】在一些實施方式中，rhGAA包含與SEQ ID NO: 4或SEQ ID NO: 6至少80%、85%、90%、95%、98%或99%相同的胺基酸序列。可以使用不同比對演算法和/或程式來計算兩個序列之間的一致性，包括可用作GCG序列分析包（威斯康辛大學，麥迪森市，威斯康辛州）的一部分的FASTA或BLAST，並且可以與例如，預設設置一起使用。例如，考慮與本文所述之特定多肽具有至少80%、85%、90%、95%、98%或99%一致性，並且較佳的是表現出基本相同功能的多肽，連同編碼此類多肽的多核苷酸。除非另有說明，相似性分數將基於BLOSUM62的使用。當使用BLASTP時，相似性百分比係基於BLASTP陽性得分，並且序列同一性百分比係基於BLASTP同一性得分。BLASTP「同一性」顯示了高得分序列對中相同的總殘基的數量和分數；並且BLASTP「正」表示比對得分為正值並且彼此相似的殘基的數量和分數。本揭露考慮和涵蓋具有與本文揭露的胺基酸序列具有該等程度的同一性或相似性或任何中間程度的同一性或相似性的胺基酸序列。使用遺傳密碼推導出的相似多肽的多核苷酸序列，並且可以藉由常規手段（具體地藉由使用遺傳密碼來逆轉錄其胺基酸序列）獲得。

【0188】在一些實施方式中，rhGAA在蛋白質中的一個或多個胺基酸殘基處經歷翻譯後和/或化學修飾。例如，甲硫胺酸和色胺酸殘基可以經歷氧化反應。作為另一個實例，可以進一步修飾SEQ ID NO: 6中的N末端麩醯胺酸以形成焦麩

胺酸。作為另一個實例，天冬醯胺殘基可以經歷脫醯胺作用以形成天冬胺酸。作為又另一個實例，天冬胺酸殘基可以經歷異構化作用以形成異天冬胺酸。作為又另一個實例，蛋白質中未配對的半胱胺酸殘基可以與游離麩胱甘肽 和/或半胱胺酸形成二硫鍵。因此，在一些實施方式中，酶最初表現為具有如SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4或SEQ ID NO: 5中所示的胺基酸序列，或由SEQ ID NO: 2編碼的胺基酸序列，並且該酶經歷該等翻譯後修飾和/或化學修飾中的一個或多個。此類修飾也在本揭露之範圍內。

***rhGAA的N-連接醣基化***

【0189】 單個rhGAA分子上有七個潛在的N-連接醣基化位點。該等潛在的醣基化位點在SEQ ID NO: 6的以下位置處：N84、N177、N334、N414、N596、N826和N869。相似地，對於SEQ ID NO: 4的全長胺基酸序列，該等潛在的醣基化位點在以下位置處：N140、N233、N390、N470、N652、N882和N925。取決於天冬醯胺殘基的位置，rhGAA的其他變體可以具有相似的醣基化位點。通常，除了X不能係His或Pro以外，在蛋白質胺基酸序列中的Asn-X-Ser或Asn-X-Thr序列指示潛在的醣基化位點。

【0190】 本文所述之rhGAA分子在其N-聚糖上平均可具有1、2、3或4個甘露糖-6-磷酸（M6P）基團。例如，在rhGAA分子上的唯一一個N-聚糖可以帶有M6P（單-磷酸化的或單-M6P），單個N-聚糖可以帶有兩個M6P基團（雙-磷酸化的或雙-M6P），或在相同rhGAA分子上的兩個不同N-聚糖可以各自帶有單個M6P基團。在一些實施方式中，本文所述之rhGAA分子在其N-聚糖上平均每莫耳rhGAA具有3-4 mol M6P基團。重組人酸性α-葡糖苷酶分子還可以具有不帶有M6P基團的N-聚糖。在另一個實施方式中，rhGAA平均包含大於2.5 mol M6P/mol rhGAA和大於4 mol唾液酸/mol rhGAA。在一些實施方式中，rhGAA平均包含約3-3.5 mol M6P/mol rhGAA。在一些實施方式中，rhGAA平均包含約4-5.4 mol唾

液酸/mol rhGAA。平均地，rhGAA上N-聚糖的至少約3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%或20%可以呈單-M6P N-聚糖形式，且平均地，rhGAA上N-聚糖的至少約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%係呈雙-M6P N-聚糖形式，且平均地，少於25%的總rhGAA不含與CIMPR結合的磷酸化N-聚糖。在一些實施方式中，rhGAA上平均約10%至約14%的總N-聚糖係單磷酸化的。在一些實施方式中，rhGAA上平均約7%至約25%的總N-聚糖係雙磷酸化的。在一些實施方式中，rhGAA平均包含至少約1.0、1.1、1.2或1.3 mol雙-M6P/mol rhGAA。

【0191】本文所述之rhGAA可具有平均0.5至7.0 mol M6P/mol rhGAA或其任何中間值或其子範圍，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7.0 mol M6P/mol rhGAA。可以將該rhGAA分級以提供具有不同平均數量的帶有單-M6P或帶有雙-M6P的N-聚糖的rhGAA製劑，從而藉由選擇特定級分或藉由選擇性地組合不同級分來允許進一步定製靶向靶組織中溶酶體的rhGAA。

【0192】在一些實施方式中，可以將在rhGAA上高達60%的N-聚糖完全唾液酸化，例如，可以將高達10%、20%、30%、40%、50%或60%的N-聚糖被完全唾液酸化。在一些實施方式中，rhGAA上不超過50%的N-聚糖被完全唾液酸化。在一些實施方式中，總N-聚糖的4%至20%被完全唾液酸化。在其他實施方式中，rhGAA上不多於5%、10%、20%、或30%的N-聚糖攜帶唾液酸和末端半乳糖殘基（Gal）。這一範圍包括所有的中間值和子範圍，例如，rhGAA上7%至30%的總N-聚糖可以攜帶唾液酸和末端半乳糖。在又其他實施方式中，在rhGAA上不多於5%、10%、15%、16%、17%、18%、19%或20%的N-聚糖僅具有末端半乳糖並且不包含唾液酸。該範圍包括所有中間值和子範圍，例如組成物中rhGAA

上的從8%至19%的總N-聚糖可以僅具有末端半乳糖並且不包含唾液酸。

【0193】在一些實施方式中，rhGAA上總N-聚糖的30%至60%、35%至60%、40%至60%、45%至60%、50%至60%或55%至60%係複合型N-聚糖；或rhGAA上總N-聚糖的不超過1%、2%、3%、4%、5%、6%或7%係雜合型N-聚糖；rhGAA上總N-聚糖的不超過5%、10%、15%、20%、25%或30%係非磷酸化的高甘露糖型N-聚糖；rhGAA上總N-聚糖的至少5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%或15%係單磷酸化的高甘露糖型N-聚糖；和/或rhGAA上總N-聚糖的至少1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、或20%係雙磷酸化的高甘露糖型N-聚糖。該等值包括所有的中間值和子範圍。rhGAA可以滿足以上所述之一個或多個含量範圍。

【0194】在一些實施方式中，rhGAA平均可攜帶2.0至8.0莫耳唾液酸殘基/莫耳rhGAA。該範圍包括所有中間值及其子範圍，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8.0 mol唾液酸殘基/ mol rhGAA。不受理論的約束，據信帶有唾液酸殘基的N-聚糖單元的存在可以藉由脫唾液酸蛋白受體來防止rhGAA的非生產性清除。

【0195】在一個或多個實施方式中，rhGAA在某些潛在N-醣基化位點處具有某種N-醣基化特徵。在一些實施方式中，rhGAA具有七個潛在N-醣基化位點。在一些實施方式中，在第一潛在N-醣基化位點處至少20%的rhGAA係被磷酸化的（例如，SEQ ID NO: 6的N84以及SEQ ID NO: 4的N140）。例如，在第一潛在N-醣基化位點處，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。這種磷酸化作用可以是單-M6P和/或雙-M6P單元的結果。在一些實施方式中，在第一潛在N-醣基化位點處，至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的rhGAA帶有單-M6P

單元。在一些實施方式中，在第一潛在N-醣基化位點處，至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的rhGAA帶有雙-M6P單元。在一些實施方式中，rhGAA在第一潛在N-醣基化位點處包含平均約1.4 mol M6P（單-M6P和雙-M6P）/mol rhGAA。在一些實施方式中，rhGAA在第一潛在N-醣基化位點處包含約至少0.5 mol雙-M6P/mol rhGAA。在一些實施方式中，rhGAA在第一潛在N-醣基化位點處包含約0.25 mol單-M6P/mol rhGAA。在一些實施方式中，rhGAA在第一潛在N-醣基化位點處包含平均約0.2 mol至約0.3 mol唾液酸/mol rhGAA。在至少一個實施方式中，rhGAA包含如圖6A所示的第一潛在N-醣基化位點佔據率和如圖6B所示的N-醣基化譜。在至少一個實施方式中，rhGAA包含如圖19A所示的第一潛在N-醣基化位點佔據率和如圖19B或圖20B所示的N-醣基化譜。

【0196】在一些實施方式中，在第二潛在N-醣基化位點處至少20%的rhGAA係被磷酸化的（例如，SEQ ID NO: 6的N177以及SEQ ID NO: 4的N223）。例如，在第二N-醣基化位點處，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。這種磷酸化作用可以是單-M6P和/或雙-M6P單元的結果。在一些實施方式中，在第二N-醣基化位點處，至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的rhGAA帶有單-M6P單元。在一些實施方式中，在第二N-醣基化位點處，至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的rhGAA帶有雙-M6P單元。在一些實施方式中，rhGAA在第二潛在N-醣基化位點處包含平均約0.5 mol M6P（單-M6P和雙-M6P）/mol rhGAA。在一些實施方式中，rhGAA在第二潛在N-醣基化位點處包含約0.4至約0.6 mol單-M6P/mol rhGAA。在至少一個實施方式中，rhGAA包含如圖6A所示的第二潛在

N-醣基化位點佔據率和如圖6C所示的N-醣基化譜。在至少一個實施方式中，rhGAA包含如圖19A所示的第二潛在N-醣基化位點佔據率和如圖19C或圖20B所示的N-醣基化譜。

【0197】在一個或多個實施方式中，在第三潛在N-醣基化位點處（例如，SEQ ID NO: 6的N334，以及SEQ ID NO: 4的N390）至少5%的rhGAA係被磷酸化的。在其他實施方式中，在第三潛在N-醣基化位點處，少於5%、10%、15%、20%或25%的rhGAA係磷酸化的。例如，該第三潛在N-醣基化位點可以具有作為主要種類的非-磷酸化的高甘露糖N-聚糖、二-、三-、和四-觸角複合N-聚糖，以及雜合N-聚糖的混合物。在一些實施方式中，在第三潛在N-醣基化位點處，至少3%、5%、8%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或50%的rhGAA係被唾液酸化的。在一些實施方式中，rhGAA在第三潛在N-醣基化位點處包含平均約0.9至約1.2 mol唾液酸/mol rhGAA。在至少一個實施方式中，rhGAA包含如圖6A所示的第三潛在N-醣基化位點佔據率和如圖6D所示的N-醣基化譜。在至少一個實施方式中，rhGAA包含如圖19A所示的第三潛在N-醣基化位點佔據率和如圖19D或圖20B所示的N-醣基化譜。

【0198】在一些實施方式中，在第四潛在N-醣基化位點處至少20%的rhGAA係被磷酸化的（例如，SEQ ID NO: 6的N414以及SEQ ID NO: 4的N470）。例如，在第四潛在N-醣基化位點處，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。這種磷酸化作用可以是單-M6P和/或雙-M6P單元的結果。在一些實施方式中，在第四潛在N-醣基化位點處，至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的rhGAA帶有單-M6P單元。在一些實施方式中，在第四潛在N-醣基化位點處，至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、

75%、80%、85%、90%或95%的rhGAA帶有雙-M6P單元。在一些實施方式中，在第四潛在N-醣基化位點處，至少3%、5%、8%、10%、15%、20%或25%的rhGAA係被唾液酸化的。在一些實施方式中，rhGAA在第四潛在N-醣基化位點處包含平均約1.4 mol M6P（單-M6P和雙-M6P）/mol rhGAA。在一些實施方式中，rhGAA在第四潛在N-醣基化位點處包含約0.4至約0.6 mol雙-M6P/mol rhGAA。在一些實施方式中，rhGAA在第四潛在N-醣基化位點處包含約0.3至約0.4 mol單-M6P/mol rhGAA。在至少一個實施方式中，rhGAA包含如圖6A所示的第四潛在N-醣基化位點佔據率和如圖6E所示的N-醣基化譜。在至少一個實施方式中，rhGAA包含如圖19A所示的第四潛在N-醣基化位點佔據率和如圖19E或圖20B所示的N-醣基化譜。

【0199】在一些實施方式中，在第五潛在N-醣基化位點處至少5%的rhGAA係被磷酸化的（例如，SEQ ID NO: 6的N596以及SEQ ID NO: 4的N692）。在其他實施方式中，在第五潛在N-醣基化位點處，少於5%、10%、15%、20%或25%的rhGAA係磷酸化的。例如，第五潛在N-醣基化位點可以具有作為主要種類的岩藻糖化的二-觸角複合N-聚糖。在一些實施方式中，在第五潛在N-醣基化位點處，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係被唾液酸化的。在一些實施方式中，rhGAA在第五潛在N-醣基化位點處包含平均約0.8至約0.9 mol唾液酸/mol rhGAA。在至少一個實施方式中，rhGAA包含如圖6A所示的第五潛在N-醣基化位點佔據率和如圖6F所示的N-醣基化譜。在至少一個實施方式中，rhGAA包含如圖19A所示的第五潛在N-醣基化位點佔據率和如圖19F或圖20B所示的N-醣基化譜。

【0200】在一些實施方式中，在第六N-醣基化位點處至少5%的rhGAA係被磷酸化的（例如，SEQ ID NO: 6的N826以及SEQ ID NO: 4的N882）。在其他實

施方式中，在第六N-醣基化位點處，少於5%、10%、15%、20%或25%的rhGAA係被磷酸化的。例如，該第六N-醣基化位點可以具有作為主要種類的二-、三-、和四-觸角複合N-聚糖的混合物。在一些實施方式中，在第六N-醣基化位點處，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係被唾液酸化的。在一些實施方式中，rhGAA在第六潛在N-醣基化位點處包含平均約1.5至約4.2 mol唾液酸/mol rhGAA。在一些實施方式中，rhGAA在第六潛在N-醣基化位點處包含平均約0.9 mol乙醯化唾液酸/mol rhGAA。在一些實施方式中，rhGAA在第六潛在N-醣基化位點處包含平均至少0.05 mol具有聚-N-乙醯基-D-乳糖胺殘基（聚-LacNAc）的聚糖種類/mol rhGAA。在一些實施方式中，超過10%的rhGAA在第六潛在N-醣基化位點處包含帶有聚-LacNAc殘基的聚糖。在至少一個實施方式中，rhGAA包含如圖6A所示的第六潛在N-醣基化位點佔據率和如圖6G所示的N-醣基化譜。在至少一個實施方式中，rhGAA包含如圖19A所示的第六潛在N-醣基化位點佔據率和如圖19G或圖20B所示的N-醣基化譜。

【0201】在一些實施方式中，在第七潛在N-醣基化位點處至少5%的rhGAA係被磷酸化的（例如，SEQ ID NO: 6的N869以及SEQ ID NO: 4的N925）。在其他實施方式中，在第七潛在N-醣基化位點處，少於5%、10%、15%、20%或25%的rhGAA係磷酸化的。在一些實施方式中，在第七潛在N-醣基化位點處，少於40%、45%、50%、55%、60%或65%的rhGAA具有任何N-聚糖。在一些實施方式中，在第七潛在N-醣基化位點處，至少30%、35%或40%的rhGAA具有N-聚糖。在一些實施方式中，rhGAA在第七潛在N-醣基化位點處包含平均至少0.5 mol唾液酸/mol rhGAA。在一些實施方式中，rhGAA在第七潛在N-醣基化位點處包含平均至少0.8 mol唾液酸/mol rhGAA。在一些實施方式中，rhGAA在第七潛在N-醣基化位點處包含平均約0.86 mol唾液酸/mol rhGAA。在一些實施方式中，

rhGAA在第七潛在N-醣基化位點處包含平均至少0.3 mol的帶有聚-LacNAc殘基的聚糖種類/mol rhGAA。在一些實施方式中，幾乎一半的rhGAA在第七潛在N-醣基化位點處包含帶有聚-LacNAc殘基的聚糖。在至少一個實施方式中，在第七潛在N-醣基化位點處鑒定的所有N-聚糖皆為複合N-聚糖。在至少一個實施方式中，rhGAA包含如圖6A或圖19A所示的第七潛在N-醣基化位點佔據率和如圖19H或圖20B所示的N-醣基化譜。

【0202】 在一些實施方式中，rhGAA包含平均3-4 mol M6P殘基/mol rhGAA和約4至約7.3 mol 唾液酸/mol rhGAA。在一些實施方式中，rhGAA進一步在第一潛在N-醣基化位點處包含平均至少約0.5mol雙-M6P/mol rhGAA，在第二潛在N-醣基化位點處包含平均約0.4至約0.6 mol單-M6P/mol rhGAA，在第三潛在N-醣基化位點處包含約0.9至約1.2 mol唾液酸/mol rhGAA，在第四潛在N-醣基化位點處包含約0.4至約0.6 mol雙-M6P/mol rhGAA，在第四潛在N-醣基化位點處包含約0.3至約0.4 mol單-M6P/mol rhGAA，在第五潛在N-醣基化位點處包含約0.8至約0.9 mol唾液酸/mol rhGAA，在第六潛在N-醣基化位點處包含約1.5至約4.2 mol唾液酸/mol rhGAA。在一些實施方式中，rhGAA在第七潛在N-醣基化位點處進一步包含平均至少0.5 mol唾液酸/mol rhGAA。在一些實施方式中，rhGAA在第七潛在N-醣基化位點處包含平均至少0.8 mol唾液酸/mol rhGAA。在至少一個實施方式中，rhGAA在第七潛在N-醣基化位點處進一步包含平均約0.86 mol唾液酸/mol rhGAA。在至少一個實施方式中，rhGAA包含七個潛在N-醣基化位點，其佔據率和N-醣基化譜如圖6A-6H所示。在至少一個實施方式中，rhGAA包含七個潛在N-醣基化位點，其佔據率和N-醣基化譜如圖19A-19H和圖20A-20B所示。

【0203】 製造rhGAA之方法公開於國際專利案號PCT/2015/053252，美國專利案號10,208,299號和美國專利案號10,961,522，其全部揭露藉由引用併入本文。

【0204】 一旦在溶酶體內，rhGAA可以酶促降解積累的肝醣。然而，常規

rhGAA產品具有低總水平的帶有單-M6P和雙-M6P的N-聚糖，並且因此靶向肌細胞很差，導致rhGAA至溶酶體的較差遞送。該等常規產品中的大多數rhGAA分子不具有磷酸化的N-聚糖，從而缺乏對CIMPR的親和力。非磷酸化的高甘露糖N-聚糖還可以被甘露糖受體清除，該甘露糖受體導致ERT的非生產性清除（圖2B）。相比之下，如圖2A所示，本文所述之rhGAA可能含有更高量的帶有單-M6P-和雙-M6P的N-聚糖，導致rhGAA有效攝取到特定組織如肌肉中。

***N-連接醣基化rhGAA的生產和純化***

【0205】 如國際專利申請案號PCT/2015/053252、美國專利案號10,208,299和美國專利案號10,961,522（其全部內容藉由引用併入本文）中所述，可以使用諸如中國倉鼠卵巢（CHO）細胞等細胞來產生其中所述之rhGAA。在CHO細胞中表現高M6P rhGAA比翻譯後修飾rhGAA的聚糖譜更有利，這至少部分係因為只有前者可以藉由聚糖降解轉化為具有最佳肝醣水解的rhGAA形式，從而增強治療功效。

【0206】 在一些實施方式中，rhGAA較佳的是由一種或多種CHO細胞系產生，該等CHO細胞系用編碼本文所述之rhGAA的DNA構建體轉化。此類CHO細胞系可以包含編碼GAA的多核苷酸的基因的多個拷貝，如5、10、15或20或更多個拷貝。表現酸性α-葡糖苷酶的等位變體或其他變體酸性α-葡糖苷酶胺基酸序列（如與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構建體可以在CHO細胞中構建並表現。熟悉該項技術者可以選擇適合於轉化CHO細胞用於產生此類DNA構建體的替代載體。

【0207】 於製備此類CHO細胞系之方法描述於國際專利案號PCT/2015/053252，美國專利案號10,208,299號和美國專利案號10,961,522，其全部內容藉由引用併入本文。簡而言之，該等方法關於用編碼GAA或GAA變體的DNA轉化CHO細胞，選擇將編碼GAA的DNA穩定整合到其染色體中並穩定表現

GAA的CHO細胞，並且選擇表現具有高含量的帶有單-M6P或雙-M6P的N-聚糖的GAA的CHO細胞，以及視需要選擇一種CHO細胞，該CHO細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。藉由培養該CHO細胞系，並且從CHO細胞培養物中回收所述之組成物，選定的CHO細胞系可以用於產生rhGAA和rhGAA組成物。在一些實施方式中，由選定的CHO細胞系產生的rhGAA包含高含量的帶有單-M6P或雙-M6P的靶向CIMPR的N-聚糖。在一些實施方式中，如本文所述產生的rhGAA具有低水平的具有末端半乳糖的複合N-聚糖。在一些實施方式中，選定的CHO細胞系稱為GA-ATB200或ATB200-X5-14。在一些實施方式中，選定的CHO細胞系包括這樣的CHO細胞培養物的傳代培養物或衍生物。在一些實施方式中，由選定的CHO細胞系產生的rhGAA稱為ATB200。

【0208】 如本文所述產生的rhGAA可藉由美國專利案號10,227,577和美國臨時申請案號62/506,569（兩者均藉由引用以其整體併入本文）中所述之以下方法純化。用於生產、捕獲和純化從CHO細胞系產生的rhGAA的示例性過程如圖3所示。

【0209】 簡而言之，生物反應器601包含細胞培養物，例如CHO細胞，其表現rhGAA並將rhGAA分泌到周圍的液體培養基中。生物反應器601可以是用於培養細胞的任何合適的生物反應器，如天後式、分批式、或補料分批式生物反應器。在對於細胞產生rhGAA而言足夠的時間後，將培養基從生物反應器中取出。這樣的培養基去除對於天後生物反應器可以是連續的，或者對於分批或補料分批反應器可以是分批的。將該介質藉由過濾系統603過濾以去除細胞。過濾系統603可以是任何合適的過濾系統，包括交替切向流過濾（ATF）系統、切向流過濾（TFF）系統和/或離心過濾系統等。在各種實施方式中，該過濾系統利用具有孔徑大小在約10奈米和約2微米之間的過濾器。

【0210】過濾後，將該濾液載入到蛋白質捕獲系統605上。蛋白質捕獲系統605可以包括一個或多個層析柱。如果使用多於一個層析柱，那麼該等層析柱可以串聯放置，這樣使得下一個層析柱可以在第一個層析柱載入後立即開始載入。可替代地，該介質去除過程可以在該等層析柱轉換的期間被中止。

【0211】在各種實施方式中，蛋白質捕獲系統605包括一個或多個陰離子交換（AEX）柱，用於直接捕獲rhGAA的產物，特別是具有高M6P含量的rhGAA。蛋白質捕獲系統605捕獲的rhGAA藉由改變柱中的pH和/或鹽含量從一個或多個柱中洗脫。表2提供了AEX柱的示例性條件。

**[表2]. AEX柱的示例性條件**

| 程序 | 緩衝液 | 流速（cm/h） | 體積（CV） | 溫度（°C） |
|---|---|---|---|---|
| 用前消毒 | 0.1-10 M NaOH | ≤ 25-2500 | ≥ 1-3（≥ 10-120 min） | 15 - 25 |
| 預平衡 | 20-2000 mM磷酸鹽緩衝液（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 |
| 載入 | NA | ≤ 10-1000 | NA | 2 - 15 |
| 洗滌1 | 4-400 mM PB，pH 6.9-7.3 | ≤ 25-2500 | ≥ 2-10 | 2 - 15 |
| 洗滌2 | 4-400 mM PB，pH 6.9-7.3 | ≤ 25-2500 | ≥ 2-10 | 15 - 25 |
| 洗脫 | 4-400 mM PB，20-2000 mM NaCl，pH 6.1-6.5 | ≤ 25-2500 | NA | 15 - 25 |
| 脫去 | 4-400 mM PB，0.1-10 M NaCl，pH 6.1-6.5 | ≤ 25-2500 | ≥ 1-5 | 15 - 25 |
| 用後消毒 | 0.1-10 M NaOH | ≤ 25-2500 | ≥ 1-3（≥ 10-120 min） | 15 - 25 |
| 儲存 | 0.01-1.0 M NaOH | ≤ 25-2500 | ≥ 1-5 | 15 - 25 |

【0212】可以使洗脫的rhGAA經受進一步的純化步驟和/或品質保證步驟。例如，可以對洗脫的rhGAA進行病毒殺滅步驟607。此種病毒殺滅607可以包括低pH殺滅、洗滌劑殺滅、或本領域已知的其他技術中的一個或多個。來自

病毒殺滅步驟607的rhGAA產物可被引入第二層析系統609中以進一步純化rhGAA產物。可替代地，可以將來自蛋白捕獲系統605的洗脫rhGAA直接進料至第二層析系統609。在各種實施方式中，該第二層析系統609包括用於進一步去除雜質的一個或多個固定的金屬親和層析（IMAC）柱。下表3中提供了IMAC柱的示例性條件。

**[表3]. IMAC柱的示例性條件**

| 程序 | 緩衝液 | 流速（cm/h） | 體積（CV） |
|---|---|---|---|
| 沖洗 | 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洗滌 | 注射用水（WFI） | ≤ 25-2500 | ≥ 1-3 |
| 螯合 | 0.01-1.0 M乙酸銅 | ≤ 25-2500 | ≥ 1-5 |
| 用WFI洗滌 | WFI | ≤ 25-2500 | ≥ 2-10 |
| 用酸性緩衝液洗滌 | 2-200 mM乙酸鈉、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 |
| 用洗脫緩衝液運行空白 | 4-400 mM PB，15-1500 mM甘胺酸，pH 6.1-6.5 | ≤ 25-2500 | ≥ 2-20 |
| 平衡 | 4-400 mM PB, pH 6.3-6.7 | ≤ 25-2500 | ≥ 1-5 |
| 載入 | NA | ≤ 25-2500 | ≥ 1-5 |
| 洗滌1 | 4-400 mM PB, pH 6.3-6.7 | ≤ 25-2500 | ≥ 2-10 |
| 洗滌2 | 4-400 mM PB，0.1-10 M NaCl，5%-30%丙二醇，pH 6.3-6.7 | ≤ 25-2500 | ≥ 2-10 |
| 洗滌3 | 4-400 mM PB, pH 6.3-6.7 | ≤ 25-2500 | ≥ 2-10 |
| 洗脫 | 4-400 mM PB，15-1500 mM甘胺酸，pH 6.1-6.5 | ≤ 25-2500 | NA |
| 脫去 | 4-400 mM PB，50-5000 mM咪唑，pH 6.3-6.7 | ≤ 25-2500 | ≥ 1-5 |
| 用後消毒 | 0.01-1 M NaOH | ≤ 25-2500 | ≥ 1-3 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| | | | （10 - 30 min） |
| 沖洗 | 4-400 mM PB, pH 6.3-6.7 | ≤ 25-2500 | ≥ 1-5 |
| 儲存 | 5%-30%乙醇 | ≤ 25-2500 | ≥ 1-5 |

【0213】將該rhGAA載入到第二層析系統609上後，將該重組蛋白從一個或多個柱上進行洗脫。可以對洗脫的rhGAA進行病毒殺滅步驟611。如同病毒殺滅607一樣，病毒殺滅611可以包括低pH殺滅、洗滌劑殺滅、或本領域已知的其他技術中的一個或多個。在一些實施方式中，僅使用病毒殺滅607或611中的一個，或在純化過程的相同階段進行病毒殺滅。

【0214】來自病毒殺滅步驟611的rhGAA產物可被引入第三層析系統613中以進一步純化重組蛋白產物。可替代地，可以將來自第二層析系統609的經洗脫的重組蛋白直接補料至第三層析系統613中。在各種實施方式中，第三層析系統613包括用於進一步去除雜質的一個或多個陽離子交換層析（CEX）柱和/或尺寸排阻層析（SEC）柱。然後將rhGAA產物從第三層析系統613洗脫。下表4中提供了CEX柱的示例性條件。

**[表4]. CEX柱的示例性條件**

| **程序** | **緩衝液** | **流速（cm/h）** | **體積（CV）** |
|---|---|---|---|
| 用前消毒 | 0.1-10 M NaOH | ≤ 25-2500 | ≥ 1-3（≥ 10-120 min） |
| 平衡 | 2-200 mM檸檬酸鈉，pH 4.0-5.0 | ≤ 30-3000 | ≥ 2-10 |
| 載入 | NA | ≤ 30-3000 | NA |
| 洗滌 | 2-200 mM檸檬酸鈉，pH 4.0-5.0 | ≤ 30-3000 | ≥ 2-10 |
| 洗脫 | 2-200 mM檸檬酸鈉，15-1500 mM NaCl，pH 4.0-5.0 | ≤ 30-3000 | ≥ 2-10 |
| 脫去 | 2-200 mM檸檬酸鈉，0.1-10 M NaCl，pH 4.0-5.0 | ≤ 30-3000 | ≥ 1-5 |
| 用後消毒 | 0.1-10 M NaOH | ≤ 25-2500 | ≥ 1-3（≥ 10-120 min） |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 儲存 | 0.01-1.0 M NaOH | ≤ 30-3000 | ≥ 1-5 |

【0215】 也可以使rhGAA產物經受進一步加工。例如，可以使用另一個過濾系統615去除病毒。在一些實施方式中，此種過濾可以利用具有孔徑在5和50 μm之間的過濾器。其他產物處理可以包括產物調節步驟617，其中該重組蛋白產物可以被滅菌、過濾、濃縮、儲存和/或具有用於終產物配製物而添加的另外的組分。

***藥物組成物***

【0216】 在各種實施方式中，提供了包含本文所述之rhGAA（單獨或與其他治療劑組合）和/或藥學上可接受的載劑的藥物組成物。

【0217】 在一個或多個實施方式中，本文所述之藥物組成物包含藥學上可接受的鹽。

【0218】 在一些實施方式中，本文使用的藥學上可接受的鹽係藥學上可接受的酸加成鹽。藥學上可接受的酸加成鹽包括但不限於鹽酸、氫溴酸、硫酸、胺基磺酸、硝酸、磷酸等，以及有機酸，包括但不限於乙酸、三氟乙酸、己二酸、抗壞血酸、天冬胺酸、苯磺酸、苯甲酸、丁酸、樟腦酸、樟腦磺酸、肉桂酸、檸檬酸、二葡萄糖酸、乙磺酸、麩胺酸、乙醇酸、甘油磷酸、半硫酸、己酸、甲酸、富馬酸、2-羥乙基磺酸（羥基乙磺酸）、乳酸、羥基馬來酸、蘋果酸、丙二酸、苯乙醇酸、均三甲苯磺酸、甲磺酸、萘磺酸、菸酸、2-萘磺酸、草酸、撲酸、果膠酯酸、苯乙酸、3-苯丙酸、三甲基乙酸 、丙酸、丙酮酸、水楊酸、硬脂酸、琥珀酸、磺胺酸、酒石酸、對甲苯磺酸、十一烷酸等。

【0219】 在一些實施方式中，本文使用的藥學上可接受的鹽係藥學上可接受的鹼加成鹽。藥學上可接受的鹼加成鹽可包括但不限於氨或銨或金屬陽離子如鈉、鉀、鋰、鈣、鎂、鐵、鋅、銅、錳、鋁等的氫氧化物、碳酸鹽或碳酸氫鹽。來源於藥學上可接受的有機無毒鹼的鹽包括但不限於以下各項的鹽：一級、

二級和三級胺，季胺化合物，經取代胺包括天然存在的經取代胺，環胺和鹼性離子交換樹脂，如甲胺、二甲胺、三甲胺、乙胺、二乙胺、三乙胺、異丙胺、三丙胺、三丁胺、乙醇胺、二乙醇胺、2-二甲胺基乙醇、2-二乙胺基乙醇、二環己基胺、離胺酸、精胺酸、組胺酸、咖啡因、海巴明、膽鹼、甜菜鹼、乙二胺、葡糖胺、甲葡糖胺、可可鹼、嘌呤、哌啉、哌啶、N-乙基哌啶、四甲基銨化合物、四乙銨化合物、吡啶、N,N-二甲基苯胺、N-甲基哌啶、N-甲基味啉、二環己胺、二苄胺、N,N-二苄基苯乙胺、1-二苯羥甲胺、N,N'-二苄基乙二胺、聚胺樹脂等。

【0220】在一些實施方式中，rhGAA或其藥學上可接受的鹽可以配製成適於靜脈內投與的藥物組成物。在一些實施方式中，藥物組成物係無菌等滲水性緩衝液中的溶液。必要時，該組成物還可以包括增溶劑和局部麻醉劑以緩解注射部位的疼痛。藥物組成物的成分可以以單位劑量形式分開或混合在一起提供，例如，作為在氣密容器中的乾燥凍乾粉或無水濃縮物，氣密容器如指明活性劑的量的安瓿或小藥囊。在藉由輸注投與組成物時，可以用包含無菌藥用級的水、鹽水或右旋糖/水的輸液瓶進行分配。在一些實施方式中，輸注可發生在醫院或診所。在一些實施方式中，輸注可以發生在醫院或診所環境之外，例如，在受試者的住處。在藉由注射投與組成物時，可以提供無菌注射用水或鹽水的安瓿，這樣使得可以在投與前將該等成分混合。

【0221】在一些實施方式中，rhGAA或其藥學上可接受的鹽每2週作為持續約4小時的IV輸注投與。在一些實施方式中，輸注總體積由患者的體重決定。如果患者經歷IAR，可以降低輸注速率並增加輸注持續時間。

【0222】在一些實施方式中，初始輸注速率係1 mg/kg/小時。在一些實施方式中，如果沒有輸注相關反應（IAR）的跡象，輸注速率每30分鐘以2 mg/kg/小時逐漸增加，直到達到7 mg/kg/小時的最大速率；然後，輸注速率維持在7

mg/kg/小時直到輸注完成。在一些實施方式中，大約總輸注持續時間為4小時。

【0223】 應使用輸注泵以逐步方式進行輸注。基於患者體重，輸注速率可以從每30分鐘 +/- 5分鐘的初始速率增加，直到達到最大速率，如下表5所示。

**[表5]：20 mg/kg劑量的推薦輸注體積和速率**

| 受試者體重範圍（kg） | 總輸注體積（mL） | 步驟 1<br>1 mg/kg/hr<br>(mL/hr) | 步驟 2<br>3 mg/kg/hr<br>(mL/hr) | 步驟 3<br>5 mg/kg/hr<br>(mL/hr) | 步驟 4<br>7 mg/kg/hr<br>(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或其藥學上可接受的鹽最嚴重的耐受性問題係輸注相關反應（IAR）的發生，在某些情況下可能包括危及生命的過敏反應或其他嚴重的過敏反應。在一些實施方式中，在投與rhGAA或其藥學上可接受的鹽之前，投與抗組胺劑、解熱劑和/或皮質類固醇的預處理。如果預處理與先前的酶替代療法（ERT）一起使用，則在投與rhGAA或其藥學上可接受的鹽之前，投與抗組胺劑、解熱劑和/或皮質類固醇的預處理。

【0225】 在一些實施方式中，rhGAA或其藥學上可接受的鹽可以配製用於口服投與。可口服投與的組成物可以配製成片劑、膠囊劑、珠粒劑（ovule）、酏劑、溶液或混懸劑、凝膠劑、糖漿劑、漱口劑，或在使用前用水或其他合適的媒劑重構的乾粉，可視需要含有用於速釋、延遲釋放、改性釋放、持續釋放、脈衝釋放或控釋應用的調味劑和著色劑。還可以使用固體組成物，如片劑、膠囊、錠劑、軟錠劑、丸劑、大丸劑、粉劑、糊劑、顆粒劑、子彈劑、糖衣丸或

預混製劑。可以根據本領域已知之方法來製備用於口服使用的固體和液體組成物。這樣的組成物還可以包含一種或多種藥學上可接受的，可以是固體或液體形式的載劑和賦形劑。片劑或膠囊可以藉由常規手段與藥學上可接受的賦形劑（包括但不限於黏合劑、填充劑、潤滑劑、崩解劑或潤濕劑）一起來製備。適合的藥學上可接受的賦形劑係本領域已知的，並且包括但不限於：預膠化澱粉、聚乙烯吡咯啶酮、聚維酮、羥丙基甲基纖維素（HPMC）、羥丙基乙基纖維素（HPEC）、羥丙基纖維素（HPC）、蔗糖、明膠、阿拉伯樹膠、乳糖、微晶纖維素、磷酸氫鈣、硬脂酸鎂、硬脂酸、山嵛酸甘油酯、滑石、矽石、玉米、馬鈴薯或木薯澱粉、澱粉乙醇酸鈉、十二烷基硫酸鈉、檸檬酸鈉、碳酸鈣、二鹼式磷酸鈣、甘胺酸交聯羧甲基纖維素鈉，以及複合矽酸鹽。可以將片劑藉由本領域熟知之方法進行包被。

【0226】在一些實施方式中，本文所述之藥物組成物可根據美國專利案號10,512,676和美國臨時申請案號62/506,574（均藉由引用以其整體併入本文）進行配製。例如，在一些實施方式中，本文所述之藥物組成物的pH為約5.0至約7.0或約5.0至約6.0。在一些實施方式中，pH在約5.5至約6.0的範圍內。在一些實施方式中，藥物組成物的pH為6.0。在一些實施方式中，可以藉由使用pH調節劑（例如，鹼化劑和酸化劑），如，氫氧化鈉和/或鹽酸，將pH調節至目標pH。

【0227】本文所述之藥物組成物可包含緩衝液系統，例如檸檬酸鹽系統、磷酸鹽系統和/或其組合。該檸檬酸鹽和/或磷酸鹽可以是檸檬酸鈉或磷酸鈉。其他鹽包括鉀和銨鹽。在一個或多個實施方式中，該緩衝液包括檸檬酸鹽。在另外的實施方式中，緩衝液包括檸檬酸鈉（例如，脫水檸檬酸鈉和檸檬酸一水合物的混合物）。在一個或多個實施方式中，包括檸檬酸鹽的緩衝溶液可以包括檸檬酸鈉和檸檬酸。在一些實施方式中，檸檬酸鹽和磷酸鹽緩衝液二者均存在。

【0228】在一些實施方式中，本文所述之藥物組成物包含至少一種賦形

劑。賦形劑可以起到張度劑、膨脹劑和/或穩定劑的作用。張力劑係幫助保證該配製物具有與人血相似或相同的滲透壓的組分。膨脹劑係增加該等配製物（例如，凍乾的）的質量，並且為該塊狀物提供足夠結構的成分。穩定劑係可以防止或最小化在疏水的空氣-水的介面表面的聚集體形成的化合物。一種賦形劑可以同時充當張度劑和膨脹劑。例如，甘露醇可以作為張度劑發揮作用，也可以提供作為膨脹劑的益處。

【0229】 張度劑的實例包括氯化鈉、甘露醇、蔗糖和海藻糖。在一些實施方式中，張度劑包含甘露醇。在一些實施方式中，一種或多種張度劑的總量在約10 mg/mL至約50 mg/mL的範圍內。在進一步的實施方式中，一種或多種張度劑的總量範圍為約10、11、12、13、14或15 mg/mL至約16、20、25、30、35、40、45或50 mg/mL的量。

【0230】 在一些實施方式中，賦形劑包含穩定劑。在一些實施方式中，穩定劑係表面活性劑。在一些實施方式中，穩定劑係聚山梨酯80。在一個或多個實施方式中，穩定劑的總量在約0.1 mg/mL至約1.0 mg/mL的範圍內。在進一步的實施方式中，穩定劑的總量在約0.1、0.2、0.3、0.4或0.5 mg/mL至約0.5、0.6、0.7、0.8、0.9或1.0 mg/mL的範圍內。在更進一步的實施方式中，穩定劑的總量為約0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9或1.0 mg/mL。

【0231】 在一些實施方式中，藥物組成物包含一種或多種以下賦形劑：檸檬酸鈉二水合物、檸檬酸一水合物、甘露醇或聚山梨酯80。

【0232】 在一些實施方式中，藥物組成物包含(a) rhGAA（例如，ATB200或西帕葡糖苷酶α），(b) 至少一種選自由檸檬酸鹽、磷酸鹽及其組合組成之群組的緩衝液，和 (c) 至少一種選自由甘露醇、聚山梨酯80及其組合組成之群組的賦形劑，並且具有 (i) 約5.0至約6.0，或 (ii) 約5.0至約7.0的pH。在一些實施方式中，組成物進一步包含水。在一些實施方式中，組成物可進一步包含酸化劑和/

或鹼化劑。

【0233】在一些實施方式中，藥物組成物包含 (a) 濃度為約5-50 mg/mL、約5-30 mg/mL或約15 mg/mL的rhGAA（例如，ATB200或西帕葡糖苷酶α），(b) 濃度為約10-100 mM或約25 mM的檸檬酸鈉緩衝液，(c) 濃度為約10-50 mg/mL或約20 mg/mL的甘露醇，(d) 濃度為約0.1-1 mg/mL、約0.2-0.5 mg/mL或約0.5 mg/mL的聚山梨酯80，annaïvee)水，並且具有約6.0的pH。在至少一個實施方式中，藥物組成物包含(a) 15 mg/mL rhGAA（例如，ATB200或西帕葡糖苷酶α）(b) 25 mM檸檬酸鈉緩衝液，(c) 20 mg/mL甘露醇 (d) 0.5 mg/mL聚山梨酯80，天然的 (e) 水，並且具有約6.0的pH。在一些實施方式中，組成物可進一步包含酸化劑和/或鹼化劑。

【0234】在一些實施方式中，包含rhGAA（例如，ATB200或西帕葡糖苷酶α）的藥物組成物在投與於有需要的受試者之前被稀釋。

【0235】在一些實施方式中，本文所述之藥物組成物可經歷凍乾（冷凍乾燥）過程以提供餅或粉。因此，在一些實施方式中，本文所述之藥物組成物屬於凍乾後的rhGAA組成物。凍乾混合物可包含本文所述之rhGAA（例如，ATB200或西帕葡糖苷酶α）、緩衝液（選自下由檸檬酸鹽、磷酸鹽、及其組合組成之群組），和至少一種賦形劑（選自由海藻糖、甘露醇、聚山梨酯80、及其組合組成之群組）。在一些實施方式中，可以向該凍乾的混合物中添加其他成分（例如，其他賦形劑）。包括該凍乾配製物的藥物組成物能以小瓶提供，然後可以將該藥物組成物儲存、轉運、重構和/或投與給患者。

【0236】在一些實施方式中，包含如本文所述之rhGAA（例如，ATB200或西帕葡糖苷酶α）的藥物組成物係玻璃小瓶中的凍乾粉末。在一些實施方式中，每個小瓶可包含約105 mg凍乾的rhGAA（例如，ATB200或西帕葡糖苷酶α）。粉末可以在無菌水中重構，然後在IV輸注投與前用0.9%氯化鈉稀釋。在一些實

施方式中，重構後，獲得的濃縮物含有15 mg rhGAA（例如，ATB200或西帕葡糖苷酶α）/mL。在一些實施方式中，在用7.2 mL稀釋劑重構後，小瓶含有可用體積為7.0 mL的濃縮物，其中含有15 mg/mL rhGAA（例如，ATB200或西帕葡糖苷酶α）。在一些實施方式中，稀釋劑係無菌水和/或0.9%氯化鈉。在一些實施方式中，每個小瓶可包括滿溢以彌補製備期間的液體損失。在一些實施方式中，本揭露提供含有105 mg凍乾rhGAA（例如，ATB200或西帕葡糖苷酶α）組成物的小瓶（例如，玻璃小瓶），該組成物包含rhGAA（例如，ATB200或西帕葡糖苷酶α）、檸檬酸鈉二水合物、檸檬酸一水合物，甘露醇、聚山梨酯80，其中各成分的量/濃度可選自本文所述之那些。

【0237】 在一些實施方式中，待重構的小瓶的數量基於患者的體重和每個小瓶含有105 mg rhGAA（例如，ATB200或西帕葡糖苷酶α）的事實。因此，在一些實施方式中，患者劑量（mg）= 受試者體重（kg）x 劑量（mg/kg）；並且所需的小瓶數量 = 患者劑量（以mg為單位）/105（mg/小瓶）。在一些實施方式中，如果小瓶的數量包括分數，則四捨五入到下一個整數。

【0238】 例如，在65 kg的患者中，劑量為20 mg/kg：患者劑量（mg）= 65 kg X 20 mg/kg = 1300 mg總劑量；所需的小瓶數 = 1300/105 mg/小瓶 = 12.381四捨五入至13個小瓶以用於分配目的。患者劑量為20 mg/kg，因此將提取前12個小瓶的全部體積，但第13個小瓶將提取2.7 ml並添加到輸注袋中。

【0239】 在一些實施方式中，重構方法包括或基本上由以下過程組成：(1) 藉由將7.2 mL無菌注射用水緩慢注入每個小瓶的內壁而不是直接注入凍乾餅來重構每個小瓶；(2) 輕輕滾動每個小瓶，不要顛倒、旋轉或搖動；(3) 將一定量的重構rhGAA（基於患者體重）在0.9%的注射用氯化鈉中稀釋，並在重構後立即稀釋到針對20 mg/kg劑量的總輸注體積（基於患者體重）；(4) 添加重構rhGAA前，除去空氣並且總量等於注射袋用0.9%氯化鈉的重構體積；(5) 慢慢地從每個

小瓶中取出重新配製的溶液，避免注射器中起泡沫；(6) 將重構的西帕葡糖苷酶α溶液直接緩慢地加入到0.9%注射用氯化鈉袋中（不要直接加入到輸液袋內可能殘留的空域中），從而避免輸液袋中起泡（可替代地，可以使用適當大小的空輸液袋，根據患者體重加入所需體積的0.9%注射用氯化鈉和重構的rhGAA來完成產品稀釋。建議使用預先填充的0.9%注射用氯化鈉袋）；(7) 將輸注袋輕輕倒置或按摩進行混合；以及 (8) 蓋好輸注袋和輸注管，避免藥物受到光照。重構後，每個小瓶將產生15 mg/mL的濃度。每瓶可提取的總劑量為105 mg/7 mL。

【0240】在一些實施方式中，僅稀釋基於患者體重的精確量的重構rhGAA。在一些實施方式中，對於重構小瓶的部分取出，數量四捨五入到小數點後1位。在一些實施方式中，不振盪混合輸注袋或使用氣動管來運輸輸注袋。在一些實施方式中，經重構和稀釋的溶液可包含在初始製備後呈細白色股線或半透明纖維形式的顆粒並且隨時間增加。

【0241】本揭露還提供了包含酶穩定劑的藥物組成物。在一些實施方式中，酶穩定劑係麥格司他或其藥學上可接受的鹽。在另一個實施方式中，酶穩定劑係去氧野尻黴素或其藥學上可接受的鹽。

【0242】在一些實施方式中，本文所述之rhGAA配製在一種藥物組成物中，而酶穩定劑如麥格司他配製在另一種藥物組成物中。在一些實施方式中，包含麥格司他的藥物組成物基於可作為ZAVESCA®（阿克特利昂製藥公司（Actelion Pharmaceuticals））商購的配製物。在一些實施方式中，包含麥格司他的藥物組成物包含微晶纖維素、預膠化澱粉、Emprove®三氯蔗糖粉末、硬脂酸鎂和/或膠體二氧化矽。在一些實施方式中，藥物組成物係用於口服投與的硬明膠膠囊，其包含約65 mg的麥格司他、微晶纖維素、預膠化澱粉、Emprove®三氯蔗糖粉末、硬脂酸鎂和/或膠體二氧化矽。

【0243】在一些實施方式中，包含麥格司他的藥物組成物包含按重量計

20%-40%的麥格司他，例如按重量計30-35%的麥格司他。在一些實施方式中，包含麥格司他的藥物組成物進一步包含按重量計40%-60%的微晶纖維素，例如按重量計45-55%的微晶纖維素。在一些實施方式中，包含麥格司他的藥物組成物進一步包含按重量計5%-25%的預膠化澱粉，例如按重量計10-20%的預膠化澱粉。在一些實施方式中，包含麥格司他的藥物組成物進一步包含按重量計0.1%-5%的三氯蔗糖，例如按重量計0.2-1%的三氯蔗糖。在一些實施方式中，包含麥格司他的藥物組成物進一步包含按重量計0.1%-5%的硬脂酸鎂，例如按重量計0.2-1%的硬脂酸鎂。在一些實施方式中，包含麥格司他的藥物組成物進一步包含按重量計0.1%-5%的膠體二氧化矽，例如按重量計0.2-1%的膠體二氧化矽。在一些實施方式中，包含麥格司他的藥物組成物在用於口服投與的硬明膠膠囊中提供。在一些實施方式中，藥物組成物係用於口服投與的硬明膠膠囊，其包含按重量計約20%-40%（例如，30-35%）的麥格司他、按重量計40%-60%（例如，45-55%）的微晶纖維素、按重量計5%-25%（例如，10-20%）的預膠化澱粉、按重量計0.1%-5%（例如，0.2%-1%）的三氯蔗糖、按重量計0.1%-5%（例如，0.2%-1%）的硬脂酸鎂和/或按重量計0.1%-5%（例如，0.2%-1%）的膠體二氧化矽。在一些實施方式中，包含麥格司他的藥物組成物以口服液體劑型提供，例如口服溶液劑、分散劑或混懸劑。在一些實施方式中，藥物組成物係口服液體劑型，其包含按重量計約20%-40%（例如，30-35%）的麥格司他、按重量計40%-60%（例如，45-55%）的微晶纖維素、按重量計5%-25%（例如，10-20%）的預膠化澱粉、按重量計0.1%-5%（例如，0.2%-1%）的三氯蔗糖、按重量計0.1%-5%（例如，0.2%-1%）的硬脂酸鎂和/或按重量計0.1%-5%（例如，0.2%-1%）的膠體二氧化矽。

【0244】在一些實施方式中，包含麥格司他的藥物組成物包含約50至約100 mg麥格司他，例如約65 mg麥格司他。在一些實施方式中，包含麥格司他的

藥物組成物包含約50至約150 mg微晶纖維素，例如約75至約125 mg微晶纖維素。在一些實施方式中，包含麥格司他的藥物組成物包含約20至約50 mg預膠化澱粉，例如約30至約40 mg預膠化澱粉。在一些實施方式中，包含麥格司他的藥物組成物包含約0.1至約5 mg三氯蔗糖，例如約0.5至約2 mg三氯蔗糖。在一些實施方式中，包含麥格司他的藥物組成物包含約0.1至約5 mg硬脂酸鎂，例如約0.5至約2 mg硬脂酸鎂。在一些實施方式中，包含麥格司他的藥物組成物包含約0.1至約5 mg膠體二氧化矽，例如約0.2 mg至約1 mg膠體二氧化矽。在一些實施方式中，包含麥格司他的藥物組成物在用於口服投與的硬明膠膠囊中提供。在一些實施方式中，藥物組成物係用於口服投與的硬明膠膠囊，其包含約50至約100 mg（例如，65 mg）的麥格司他、約50至約150 mg（例如，75 mg至約125 mg）的微晶纖維素，約20至約50 mg（例如，30 mg至約40 mg）的預膠化澱粉，約0.1至約5 mg（例如，0.5 mg至約2 mg）的三氯蔗糖，約0.1至約5 mg（例如，0.5 mg）至約2 mg的硬脂酸鎂，和/或約0.1至約5 mg（例如，0.5 mg至約2 mg）的膠體二氧化矽。在一些實施方式中，包含麥格司他的藥物組成物以口服液體劑型提供，例如口服溶液劑、分散劑或混懸劑。在一些實施方式中，藥物組成物係口服液體劑型，其包含約50至約100 mg（例如，65 mg）的麥格司他、約50至約150 mg（例如，75 mg至約125 mg）的微晶纖維素，約20至約50 mg（例如，30 mg至約40 mg）的預膠化澱粉，約0.1至約5 mg（例如，0.5 mg至約2 mg）的三氯蔗糖，約0.1至約5 mg（例如，0.5 mg）至約2 mg的硬脂酸鎂，和/或約0.1至約5 mg（例如，0.5 mg至約2 mg）的膠體二氧化矽。

【0245】 在一些實施方式中，包含麥格司他的藥物組成物以用於口服投與的硬明膠膠囊提供，其包含約65 mg麥格司他、約100 mg微晶纖維素、約32.6 mg預膠化澱粉、約1 mg三氯蔗糖粉末、約1 mg硬脂酸鎂，和約0.4 mg膠體二氧化矽。

【0246】 在一些實施方式中，包含麥格司他的藥物組成物以口服溶液劑、

分散劑或混懸劑提供，其包含約65 mg麥格司他、約100 mg微晶纖維素、約32.6 mg預膠化澱粉、約1 mg三氯蔗糖粉末、約1 mg硬脂酸鎂，和約0.4 mg膠體二氧化矽。

【0247】 在一些實施方式中，包含麥格司他的藥物組成物以口服溶液劑、分散劑或混懸劑提供，其包含約130 mg麥格司他、約200 mg微晶纖維素、約65.2 mg預膠化澱粉、約2 mg三氯蔗糖粉末、約2 mg硬脂酸鎂，和約0.8 mg膠體二氧化矽。

【0248】 在一些實施方式中，包含麥格司他的藥物組成物以口服溶液劑、分散劑或混懸劑提供，其包含約195 mg麥格司他、約300 mg微晶纖維素、約97.8 mg預膠化澱粉、約3 mg三氯蔗糖粉末、約3 mg硬脂酸鎂，和約1.2 mg膠體二氧化矽。

【0249】 在一些實施方式中，包含麥格司他的藥物組成物以口服溶液劑、分散劑或混懸劑提供，其包含約260 mg麥格司他、約400 mg微晶纖維素、約130.4 mg預膠化澱粉、約4 mg三氯蔗糖粉末、約4 mg硬脂酸鎂，和約1.6 mg膠體二氧化矽。

*治療方法*

**A、疾病的治療**

【0250】 本揭露之另一個方面關於藉由投與本文所述之rhGAA或藥物組成物來治療與肝醣儲存失調相關的疾病或障礙之方法。在一些實施方式中，疾病係龐貝氏病（也稱為酸性麥芽糖酶缺乏症（AMD）和第二型肝醣儲積症（GSD II））。在一些實施方式中，rhGAA係ATB200或西帕葡糖苷酶α。在一些實施方式中，藥物組成物包含rhGAA（例如，ATB200或西帕葡糖苷酶α）。本文還提供了rhGAA（例如，ATB200或西帕葡糖苷酶α）治療龐貝氏病的用途。

【0251】 在一些實施方式中，藉由本文揭露之方法治療的受試者係經歷過ERT的患者。例如，藉由本文揭露之方法治療的受試者係確診為遲發性龐貝氏病

（酸性α-葡糖苷酶（GAA）缺乏症）的18歲或以上的成年患者，他們之前接受過酶替代療法（ERT）。在一些實施方式中，經歷過ERT的患者目前正在接受批准的ERT（例如，MYOZYME®或LUMIZYME®）。在一些實施方式中，經歷過ERT的患者正在接受他們目前的治療。在一些實施方式中，本文揭露之方法在最後一次ERT劑量後約2週開始。在一些實施方式中，藉由本文揭露之方法治療的受試者係ERT初治患者。

【0252】在一些實施方式中，可期望患者每3個月再次看診以確保提供給患者的臨床益處並因此繼續治療。這種就診頻率可能是需要的，直到在醫藥產品上市之前。在一些實施方式中，基於對疾病的主要臨床和實驗室參數的評估定期評估患者對治療的反應。在一些實施方式中，每兩週投與本文所述之rhGAA（例如西帕葡糖苷酶α）和麥格司他。在一些實施方式中，rhGAA例如西帕葡糖苷酶α的劑量為約20 mg/kg體重，作為4小時輸注給予。在一些實施方式中，如果輸注延遲，則不應在口服給予麥格司他後超過3小時開始輸注。在一些實施方式中，對於體重50 kg或以上的患者，四個65 mg膠囊（總共260 mg）。

【0253】在上述一些實施方式中，對於體重在40 kg和50 kg之間的患者，投與三個65 mg膠囊（總共195 mg）的劑量。在上述一些實施方式中，rhGAA（例如西帕葡糖苷酶α）每兩週藉由輸注投與。

【0254】本文所述之rhGAA或藥物組成物藉由合適的途徑投與。在一個實施方式中，rhGAA或藥物組成物靜脈內投與。在一些實施方式中，rhGAA或藥物組成物使用輸注泵靜脈內投與。在一些實施方式中，當靜脈內投與時，輸注袋和輸注管被覆蓋以避光。在其他實施方式中，藉由直接投與至靶組織（如至心臟或骨骼肌（例如，肌內））或神經系統（例如，直接注射到腦中；腦室內；鞘內）來投與rhGAA或藥物組成物。在一些實施方式中，rhGAA或藥物組成物口服投與。如果需要，可以同時使用多於一種途徑。

【0255】在一些實施方式中，本文所述之rhGAA或藥物組成物的治療效果可基於以下一項或多項標準進行評估：(1) 心臟狀況（例如，舒張末期和/或收縮末期容積的增加，或者通常在GSD-II中發現的進行性心肌病的減少、改善或預防），(2) 肺功能的改進（例如，超過基線能力的啼哭肺活量的增加，和/或在啼哭期間氧脫飽和的正常化），(3) 神經發育和/或運動技能/功能（例如，AIMS評分的增加），(4) 受疾病影響的個體的組織中的肝醣水平的降低，(5) 肌肉力量；和/或 (6) 生活品質。

【0256】在一些實施方式中，本文所述之rhGAA或藥物組成物的治療效果可以藉由運動功能、肌肉力量、肺功能、患者報告的結果（PRO）和生物標誌物的測量來評估。在一些實施方式中，本文所述之rhGAA或藥物組成物的治療效果可以藉由6分鐘步行測試（6MWT）、預測的6MWD%、10米步行測試（10MWT）、GSGC、爬4級樓梯、高爾斯（Gowers'）、椅子測試和計時起立行走（TUG）。用本文所述之rhGAA或藥物組成物治療還可導致肺功能測試（PFT）的改善，如藉由FVC（例如，坐姿、仰臥）、慢肺活量（SVC）、最大吸氣壓力（MIP）、最大呼氣壓力（MEP）和嗅鼻吸氣壓力（SNIP）所測量的，以及能行走和不能行走受試者的所有測試身體部位的肌肉力量的改善，如藉由MMT（例如，下肢MMT、上肢MMT、總體MMT）和定量肌肉測試（QMT）所測量的。

【0257】在一些實施方式中，與用媒劑治療的受試者的心臟狀態或治療前受試者的心臟狀態相比，在投與一劑或多劑本文所述之rhGAA或藥物組成物後，受試者的心臟狀態改善了10%、20%、30%、40%或50%（或之間的任何百分比）。受試者的心臟狀態可以藉由測量舒張末期和/或收縮末期容積和/或藉由臨床評估心肌病來評估。在一些實施方式中，與用媒劑治療的受試者的肺功能或治療前受試者的肺功能相比，在投與一劑或多劑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）的藥物組成物

後，受試者的肺功能改善了10%、20%、30%、40%或50%（或之間的任何百分比）。在某些實施方式中，改善係在投與1週、2週、3週、1個月、2個月或更長時間後（或兩者之間的任何時間段）實現的。在某些實施方式中，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）的藥物組成物在投與後1週、2週、3週、1個月、2個月或更長時間（或其間的任何時間段）改善和/或穩定受試者的肺功能。

【0258】在一些實施方式中，與用媒劑治療的受試者的肺功能或治療前受試者的肺功能相比，在投與一劑或多劑本文所述之rhGAA或藥物組成物後，受試者的肺功能改善了10%、20%、30%、40%或50%（或之間的任何百分比）。受試者的肺功能可以藉由哭泣肺活量超過基線肺活量和/或哭泣期間氧飽和度的歸一化來評估。在一些實施方式中，與用媒劑治療的受試者的肺功能或治療前受試者的肺功能相比，在投與一劑或多劑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）的藥物組成物後，受試者的肺功能改善了10%、20%、30%、40%或50%（或之間的任何百分比）。在某些實施方式中，改善係在投與1週、2週、3週、1個月、2個月或更長時間後（或兩者之間的任何時間段）實現的。在某些實施方式中，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）的藥物組成物在投與後1週、2週、3週、1個月、2個月或更長時間（或其間的任何時間段）改善受試者的肺功能。

【0259】在一些實施方式中，與用媒劑治療的受試者的神經發育和/或運動技能或治療前受試者的神經發育和/或運動技能相比，在投與一劑或多劑rhGAA（例如，ATB200或西帕葡糖苷酶α）或本文所述之rhGAA（例如，ATB200或西帕葡糖苷酶α）的藥物組成物後，受試者的神經發育和/或運動技能改善了10%、20%、30%、40%或50%（或之間的任何百分比）。受試者的神經發育和/或運動

技能可以藉由確定AIMS得分來評估。AIMS係由臨床醫師執行和評分的12項錨定量表（參見Rush JA Jr., Handbook of Psychiatric Measures[神經病學量表手冊], 美國精神病學協會（American Psychiatric Association）, 2000, 166-168）。項目1-10按5分錨定量表進行評分。項目1-4評估口面部運動。項目5-7關於肢體和軀幹運動障礙。項目8-10關於檢查者判斷的總體嚴重程度，以及患者對運動的意識和與之相關的痛苦。項目11-12係關於牙齒和/或假牙問題的是/否問題（此類問題可能導致誤診為運動障礙）。在一些實施方式中，與用媒劑治療的受試者的神經發育和/或運動技能或治療前受試者的神經發育和/或運動技能相比，在投與一劑或多劑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）的藥物組成物後，受試者的神經發育和/或運動技能改善了10%、20%、30%、40%或50%（或之間的任何百分比）。在某些實施方式中，改善係在投與1週、2週、3週、1個月、2個月或更長時間後（或兩者之間的任何時間段）實現的。在某些實施方式中，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）的藥物組成物在投與後1週、2週、3週、1個月、2個月或更長時間（或其間的任何時間段）改善和/或穩定受試者的神經發育和/或運動技能。

【0260】在一些實施方式中，與用媒劑治療的受試者的某個組織的肝醣水平或治療前受試者的某個組織的肝醣水平相比，在投與一劑或多劑本文所述之rhGAA或藥物組成物後，受試者的某個組織的肝醣水平降低了10%、20%、30%、40%或50%（或之間的任何百分比）。在一些實施方式中，組織係肌肉，例如股四頭肌、三頭肌和腓腸肌。可以使用本領域已知之方法分析組織的肝醣水平。眾所周知，肝醣水平的測定基於澱粉葡糖苷酶消化，並在以下出版物中有所描述：Amalfitano等人 (1999), *Proc Natl Acad Sci USA[美國國家科學院院刊]*, 96:8861-8866。在一些實施方式中，與用媒劑治療的受試者的肌肉中的肝醣水平

或治療前受試者的肌肉中的肝醣水平相比，在投與一劑或多劑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）的藥物組成物後，受試者的肌肉中的肝醣水平降低了10%、20%、30%、40%或50%（或之間的任何百分比）。在某些實施方式中，降低係在投與1週、2週、3週、1個月、2個月或更長時間後（或兩者之間的任何時間段）實現的。在某些實施方式中，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）的藥物組成物在投與後1週、2週、3週、1個月、2個月或更長時間（或其間的任何時間段）降低受試者肌肉中的肝醣水平。

【0261】在一些實施方式中，本申請的藥物組成物的治療效果，例如本文所述之那些，係持久的並且在治療的12、24、36、48或 > 48個月內保持。在一些實施方式中，本申請的藥物組成物的治療效果持續至或貫穿治療的24個月、36個月或48個月，該治療效果包括諸如改善運動功能（例如，如藉由6MWD、GSGC、10 m步行、爬4級樓梯、高爾斯、椅子測試、TUG所測量的）、肺功能或呼吸功能，或改善或穩定PFT（例如，如藉由預測FVC %（坐姿和仰臥）、SVC、MIP、MEP和SNIP所測量的）、生物標誌物水平（例如，血清CK和尿液Hex4）、穩定或改善所有測試身體部位的肌肉力量（例如，如藉由MMT（下肢、上肢、總體）、QMT所測量的）和/或患者報告的結果（PRO，包括PROMIS-身體功能簡表[SF] 20a和PROMIS-疲勞SF 8a）。

【0262】在一些實施方式中，用本申請的藥物組成物治療的患者比用常規rhGAA產品（例如，MYOZYME®、LUMIZYME®或NEXVIAZYME®）治療的患者在以下方面獲得更大（例如，更大的有臨床意義）的改善：運動功能（例如，如藉由6MWD、GSGC、10 m步行、爬4級樓梯、高爾斯、椅子測試、TUG所測量的）、肺功能或呼吸功能、或改善或穩定的PFT（例如，如藉由預測FVC %（坐姿和仰臥）、SVC、MIP、MEP和SNIP所測量的）、生物標誌物水平（例

如，血清CK和尿液Hex4）、穩定或改善的所有測試身體部位的肌肉力量（例如，如藉由MMT（下肢、上肢、總體）、QMT所測量的）和/或患者報告的結果（PRO，包括PROMIS-身體功能簡表[SF] 20a和PROMIS-疲勞SF 8a）。在一些實施方式中，用本申請的藥物組成物治療的患者在運動功能（例如，藉由6MWD測量）、肺或呼吸功能（例如，藉由FVC測量）和/或肌肉力量（例如，藉由MMT測量）方面顯示出比用常規rhGAA產品（例如，MYOZYME®、LUMIZYME® 或NEXVIAZYME®）治療的患者更大（例如，更大的臨床意義）的改善。在一些實施方式中，這種更大的改善持續長達或貫穿12、24、36、48或 > 48個月的治療。

【0263】在一些實施方式中，用本申請的藥物組成物治療的經歷過ERT的轉換患者（例如從常規rhGAA產品（例如，MYOZYME®、LUMIZYME®或NEXVIAZYME®）轉換為本申請的藥物組成物的那些患者）當與繼續使用常規rhGAA產品的患者相比時在以下方面顯示出更大的（例如，更大的有臨床意義）的改善：運動功能（例如，如藉由6MWD、GSGC、10 m步行、爬4級樓梯、高爾斯、椅子測試、TUG所測量的）、肺功能或呼吸功能、或改善或穩定的PFT（例如，如藉由預測FVC %（坐姿和仰臥）、SVC、MIP、MEP和SNIP所測量的）、生物標誌物水平（例如，血清CK和尿液Hex4）、穩定或改善的所有測試身體部位的肌肉力量（例如，如藉由MMT（下肢、上肢、總體）、QMT所測量的）和/或患者報告的結果（PRO，包括PROMIS-身體功能簡表[SF] 20a和PROMIS-疲勞SF 8a）。在一些實施方式中，接受常規rhGAA產品（例如MYOZYME®、LUMIZYME®或NEXVIAZYME®）治療的患者（其運動功能不再改善或惡化）在植物本申請的藥物組成物後在以下方面實現改善：運動功能（例如，如藉由6MWD、GSGC、10 m步行、爬4級樓梯、高爾斯、椅子測試、TUG所測量的）、肺功能或呼吸功能、或改善或穩定的PFT（例如，如藉由預測FVC %（坐姿和仰

臥）、SVC、MIP、MEP和SNIP所測量的）、生物標誌物水平（例如，血清CK和尿液Hex4）、穩定或改善的所有測試身體部位的肌肉力量（例如，如藉由MMT（下肢、上肢、總體）、QMT所測量的）和/或患者報告的結果（PRO，包括PROMIS-身體功能簡表[SF] 20a和PROMIS-疲勞SF 8a）。在一些實施方式中，這種改善持續長達或貫穿12、24、36、48或 > 48個月。

**B.生物標誌物**

【0264】 受試者體內肝醣累積的生物標誌物，例如尿己糖四糖（Hex4），可用於評估和比較酶替代療法在患有龐貝氏病的受試者中的治療效果。在一些實施方式中，rhGAA或包含rhGAA的藥物組成物對肝醣累積的治療效果藉由測量受試者的尿Hex4水平來評估。

【0265】 肌酸激酶（CK）、乳酸脫氫酶（LDH）、丙胺酸胺基轉移酶（ALT）和天冬胺酸胺基轉移酶（AST）等肌肉損傷或損傷的生物標誌物可用於評估和比較在患有龐貝氏病的受試者中酶替代療法的治療效果。在一些實施方式中，rhGAA或包含rhGAA的藥物組成物對肌肉損傷的治療效果藉由測量受試者中CK、LDH、ALT和/或AST的水平來評估。在至少一個實施方式中，rhGAA或包含rhGAA的藥物組成物對肌肉損傷的治療效果藉由測量受試者中的CK水平來評估。

【0266】 生物標誌物如LAMP-1、LC3和戴斯富林蛋白也可用於評估和比較本文所述之rhGAA或藥物組成物的治療效果。在龐貝氏病中，GAA不能水解溶酶體肝醣導致某些組織中充滿肝醣的大溶酶體異常積累。（Raben等人, JBC[生物化學雜誌] 273: 19086-19092, 1998.）對龐貝氏病小鼠模型的研究表明，骨骼肌中增大的溶酶體不能充分解釋機械性能的下降，並且含有降解的肌原纖維（即，自噬堆積）的大包涵體的存在會導致肌肉功能受損。（Raben等人, Human Mol Genet[人類分子遺傳學] 17: 3897-3908, 2008.）報告還表明，自噬通量受損與龐貝

氏病患者的不良治療結果有關。（Nascimbeni等人, Neuropathology and Applied Neurobiology [神經病理學和應用神經生物學] doi: 10.1111/nan.12214, 2015; Fukuda等人, Mol Ther [分子療法] 14: 831-839, 2006.）此外，遲發性龐貝氏病在未分類的肢帶型肌營養不良症（LGMD）中普遍存在（Preisler等人, Mol Genet Metab [分子遺傳學與代謝] 110: 287-289, 2013），該肢帶型肌營養不良症係一組遺傳異質性神經肌肉疾病，其具有超過30種不同嚴重程度的遺傳定義亞型。IHC檢查顯示*Gaa* KO小鼠骨骼肌纖維中戴斯富林蛋白在肌漿的存在顯著升高。

【0267】可以使用各種已知方法來測量此類生物標誌物的基因表現水平和/或蛋白質水平。例如，可以獲得來自用本文描述的rhGAA或藥物組成物治療的受試者的樣本，例如組織生檢，特別是肌肉生檢。在一些實施方式中，樣本係受試者肌肉的生檢。在一些實施方式中，肌肉選自股四頭肌、三頭肌和腓腸肌。從受試者獲得的樣本可以用一種或多種抗體或檢測此類生物標誌物的其他檢測劑染色或藉由質譜法鑒定和定量。還可以或備選地處理樣本以藉由例如RT-qPCR方法檢測編碼生物標誌物的核酸例如mRNA的存在。

【0268】在一些實施方式中，一種或多種生物標誌物的基因表現水平和/或蛋白質水平在從用本文描述的rhGAA或藥物組成物治療之前和之後的個體獲得的肌肉生檢中測量。在一些實施方式中，一種或多種生物標誌物的基因表現水平和/或蛋白質水平在獲自用媒劑治療的個體的肌肉生檢中測量。在一些實施方式中，與用媒劑治療的受試者的基因表現水平和/或蛋白質水平或治療前受試者的基因表現水平和/或蛋白質水平相比，在投與一劑或多劑本文所述之rhGAA或藥物組成物後，一種或多種生物標誌物的基因表現水平和/或蛋白質水平降低10%、20%、30%、40%或50%（或之間的任何百分比）。在一些實施方式中，與用媒劑治療的受試者的基因表現水平和/或蛋白質水平或治療前受試者的基因表現水平和/或蛋白質水平相比，在投與一劑或多劑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）的藥物組成物後，一種或多種生物標誌物的基因表現水平和/或蛋白質水平降低10%、20%、30%、40%或50%（或之間的任何百分比）。在某些實施方式中，降低係在投與1週、2週、3週、1個月、2個月或更長時間後（或兩者之間的任何時間段）實現的。在某些實施方式中，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）的藥物組成物在自投與起1週、2週、3週、1個月、2個月或更長時間（或之間的任何時間段）後降低一種或多種生物標誌物的基因表現水平和/或蛋白質水平。

**C. rhGAA的劑量**

【0269】將該藥物配製物或經重構的組成物以治療有效量投與（例如，當以規律間隔投與時，足以治療疾病的劑量，如藉由減輕與疾病相關的症狀，延遲疾病的發病，和/或減輕疾病的症狀的嚴重性或頻率實現的）。在治療疾病中治療有效的量取決於疾病影響的性質和程度，並且可以藉由標準臨床技術來確定。另外，可以視需要採用體外或體內測定來幫助鑒定最佳劑量範圍。在至少一個實施方式中，本文所述之rhGAA或包含rhGAA的藥物組成物以約1 mg/kg至約100 mg/kg，例如約5 mg/kg至約30 mg/kg，通常約5 mg/kg至約20 mg/kg的劑量投與。在至少一個實施方式中，本文所述之rhGAA或藥物組成物以約5 mg/kg、約10 mg/kg、約15 mg/kg、約20 mg/kg、約25 mg/kg、約30 mg/kg，約35 mg/kg，約40 mg/kg，約50 mg/kg，約50 mg/kg，約60 mg/kg，約70 mg/kg，約80 mg/kg，約90mg /kg，或約100 mg/kg的劑量投與。在一些實施方式中，rhGAA以5 mg/kg、10 mg/kg、20 mg/kg、50 mg/kg、75 mg/kg或100 mg/kg的劑量投與。在至少一個實施方式中，rhGAA或藥物組成物以約20 mg/kg的劑量投與。在一些實施方式中，rhGAA或藥物組成物與酶穩定劑同時或依次投與。在一些實施方式中，酶穩定劑係麥格司他。在至少一個實施方式中，麥格司他以約260 mg的口服劑量

投與。在至少一個實施方式中，麥格司他以約195 mg的口服劑量投與。對具體個體的有效劑量可以是隨著時間變化的（例如，增加的或減少的），這取決於該個體的需要。例如，在生理疾病或軀體應激的時候，或如果抗-酸性α-葡糖苷酶抗體存在或增加，或如果疾病症狀惡化，可以調整rhGAA和/或麥格司他的量。

【0270】 在一些實施方式中，本文所述之rhGAA或藥物組成物的治療有效劑量低於常規rhGAA產品的治療有效劑量。例如，如果常規rhGAA產品的治療有效劑量為20 mg/kg，則產生與常規rhGAA產品相同或更好的治療效果所需的本文所述rhGAA或藥物組成物的劑量可低於20 mg/kg。治療效果可以基於以上討論的一個或多個標準（例如，心臟狀態、肝醣水平或生物標誌物表現）來評估。在一些實施方式中，本文所述之rhGAA或藥物組成物的治療有效劑量比常規rhGAA產品低至少約5%、10%、15%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多。

【0271】 在一些實施方式中，本文所述rhGAA或藥物組成物的治療效果包括改善和/或穩定運動功能、改善和/或穩定肌肉力量（上身、下身或全身）、改善和/或穩定肺功能、減少疲勞、降低至少一種肌肉損傷生物標誌物的水平、降低至少一種肝醣累積生物標誌物的水平或其組合。在一些實施方式中，本文所述之rhGAA或藥物組成物的治療效果包括肌纖維中的溶酶體病理學逆轉、肌纖維中的肝醣含量更快和/或更有效地減少、六分鐘步行測試距離增加、計時起立行走時間的減少、爬四級樓梯測試時間的減少、十米步行測試時間的減少、步態-樓梯-高爾斯-椅子得分的下降、上肢力量的增加、肩內收的改善和/或穩定、肩外展的改善和/或穩定、肘屈曲的改善和/或穩定、肘伸展的改善和/或穩定、上半身力量的改善和/或穩定、下半身力量的改善和/或穩定、全身力量的改善和/或穩定、直立（坐姿）用力肺活量的改善、最大呼氣壓力的改善和/或穩定、最大吸氣壓力的改善和/或穩定、疲勞嚴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、穀丙轉胺酶水平的降低、天冬胺酸轉胺酶水平的降低或其任何組合。

【0272】在一些實施方式中，當以相同劑量投與時，本文所述之rhGAA或藥物組成物比常規rhGAA產品更快地達到所需的治療效果。治療效果可以基於以上討論的一個或多個標準（例如，心臟狀態、肝醣水平或生物標誌物表現）來評估。例如，如果單劑量的常規rhGAA產品在一週內將被治療個體的組織中的肝醣水平降低10%，那麼當投與相同劑量的rhGAA或本文所述之藥物組成物時，可以在不到一週的時間內實現相同程度的降低。在一些實施方式中，當以相同劑量投與時，本文所述之rhGAA或藥物組成物可達到所需的治療效果，比常規rhGAA產品快至少約1.25、1.5、1.75、2.0、3.0或更多。

【0273】在一些實施方式中，治療有效量的rhGAA（或包含rhGAA的組成物或藥物）被投與多於一次。在一些實施方式中，本文所述之rhGAA或藥物組成物根據疾病影響的性質和程度以規律的間隔持續投與。如本文中所使用，以「規律的間隔」投與表示，將該治療有效量定期地投與（如區別於一次性劑量）。該間隔可以藉由標準臨床技術來確定。在某些實施方式中，rhGAA每兩個月一次、每月一次、每兩週一次、每週一次、每週兩次或每天一次投與。在一些實施方式中，每週兩次、每週一次或每隔一週靜脈內投與rhGAA。單個個體的投與間隔不需要係固定的間隔，但是可以是隨時間變化的，其取決於該個體的需要。例如，在生理疾病或軀體應激的時候，如果抗rhGAA抗體存在或增加，或如果疾病症狀惡化，可以減小劑量之間的間隔。

【0274】在一些實施方式中，當以相同劑量使用時，本文所述之rhGAA或藥物組成物可以比常規rhGAA產品更低的頻率投與，但仍能產生與常規rhGAA產品相同或更好的治療效果。例如，如果常規的rhGAA產品以20 mg/kg每週投與，那麼當以20 mg/kg投與時，本文所述之rhGAA或藥物組成物可產生與常規的

rhGAA產品相同或更好的治療效果，即使rhGAA或藥物組成物的投與頻率更低，例如兩週一次或每月一次。治療效果可以基於以上討論的一個或多個標準（例如，心臟狀態、肝醣水平或生物標誌物表現）來評估。在一些實施方式中，兩次劑量的本文所述之rhGAA或藥物組成物之間的間隔長於常規rhGAA產品的間隔。在一些實施方式中，rhGAA或藥物組成物兩次劑量之間的間隔比常規rhGAA產品的間隔長至少約1.25、1.5、1.75、2.0、3.0或更多。

【0275】在一些實施方式中，在相同的治療條件下（例如，以相同的間隔投與相同的劑量），本文所述之rhGAA或藥物組成物提供的治療效果優於常規rhGAA產品所提供的治療效果。治療效果可以基於以上討論的一個或多個標準（例如，心臟狀態、肝醣水平或生物標誌物表現）來評估。例如，當與每週以20 mg/kg投與的常規rhGAA產品相比時，以每週20 mg/kg投與的rhGAA或藥物組成物可以更高程度地降低治療個體組織中的肝醣水平。在一些實施方式中，當在相同治療條件下投與時，本文所述之rhGAA或藥物組成物提供的治療效果比常規rhGAA產品的治療效果高至少約1.25、1.5、1.75、2.0、3.0或更多。

**D.雙組分療法**

【0276】在一個或多個實施方式中，本文所述之rhGAA或包含rhGAA的藥物組成物與酶穩定劑同時或依次投與。在一些實施方式中，rhGAA或藥物組成物藉由與酶穩定劑相比不同的途徑投與。例如，酶穩定劑可以口服投與，而rhGAA或藥物組成物可以靜脈內投與。

【0277】在各種實施方式中，酶穩定劑係麥格司他。不希望受任何理論的束縛，據信，當共同投與時，麥格司他穩定rhGAA（例如，ATB200或西帕葡糖苷酶α）免於體循環中的變性，這增強了活性成分rhGAA（例如，ATB200或西帕葡糖苷酶α）的遞送到溶酶體。

【0278】在一些實施方式中，麥格司他以約50 mg至約600 mg的口服劑量

投與。在至少一個實施方式中，將麥格司他按以約200 mg至約600 mg的口服劑量，或以約200 mg、約250 mg、約300 mg、約350 mg、約400 mg、約450 mg、約500 mg、約550 mg或約600 mg的口服劑量投與。在至少一個實施方式中，將麥格司他以約233 mg至約500 mg的口服劑量投與。在至少一個實施方式中，將麥格司他按以約250至約270 mg的口服劑量，或約250 mg、約255 mg、約260 mg、約265 mg或約270 mg的口服劑量投與。在至少一個實施方式中，麥格司他以約260 mg的口服劑量投與。

【0279】 熟悉該項技術者將理解，在約200 mg至600 mg範圍內或任何更小範圍內的麥格司他口服劑量可適合成年患者，這取決於他/她的體重。例如，對於體重顯著低於約70kg的患者，包括但不限於嬰兒、兒童或體重不足的成人，醫生可以認為更小的劑量係適合的。因此，在至少一個實施方式中，麥格司他以約50 mg至約200 mg的口服劑量，或以約50 mg、約75 mg、約100 mg、約125 mg、約130 mg、約150 mg、約175 mg、約195 mg、約200 mg或約260 mg的口服劑量投與。在至少一個實施方式中，麥格司他以約65 mg至約195 mg的口服劑量、約65 mg至約260 mg的口服劑量、約195 mg至約260 mg的口服劑量，或約65 mg、約130 mg、約195 mg或約260 mg的口服劑量投與。

【0280】 在一些實施方式中，rhGAA（例如，ATB200或西帕葡糖苷酶α）和麥格司他的起始劑量可以基於體重（參見，例如，**表**）。在一些實施方式中，可以調整麥格司他劑量並且可以在改變麥格司他劑量之前在連續2次輸注就診時確認體重增加或減少。

**[表6]：示例性rhGAA和麥格司他劑量方案**

| 年齡組 | 體重組（kg） | rhGAA的起始劑量（例如，ATB200或西帕葡糖苷酶α）（mg/kg） | 麥格司他劑量（mg） |
|---|---|---|---|
| 成人 | 40至 < 50 | 20 | 195[a] |
| | ≥ 50 | 20 | 260[b] |

[a]以三個65 mg膠囊或195 mg口服液劑型投與的劑量

[b]以四個65 mg膠囊或以260 mg口服液體劑型投與的劑量

【0281】 麥格司他表現出線性藥物動力學，濃度-時間曲線下的血漿面積（AUC）和最大濃度（$C_{max}$）與從130 mg（體重≥50 kg的患者中推薦劑量260 mg的0.5倍）增加至260 mg的劑量大致成正比。在推薦的260 mg劑量，平均$C_{max}$約為3 mcg/mL和平均AUC約為25 mcg*hr/mL。達到最大濃度的平均時間為2至3小時。

【0282】 腎損害患者的麥格司他血漿濃度升高。因此，麥格司他的表觀清除率隨著腎功能的降低而降低。現有數據估計，與腎功能正常的患者相比，輕度（基於Cockcroft-Gault方程的肌酐清除率，CLcr 60-89 mL/分鐘）、中度（CLcr 30-59 mL/分鐘）和重度（CLcr 15-29 mL/分鐘）腎損害患者的麥格司他$AUC_{0-24hr}$分別增加21%、26%和31%。在一些實施方式中，與具有正常腎功能的患者相比，具有中度或重度腎損害的患者的麥格司他劑量減少。下表7提供了中度或重度腎損害患者的示例性劑量：

**[表7]：中度或重度腎損害患者的推薦麥格司他劑量**

| | **中度腎損害[1]（CLcr 30-59 mL/分鐘）** | **嚴重腎損害[1]（CLcr 15-30 mL/分鐘）** |
|---|---|---|
| 患者體重≥50 kg | 195 mg | 195 mg |
| 患者體重≥40 kg至<50 kg | 130 mg | 130 mg |

[1]根據 Cockcroft-Gault 方程按肌酐清除率分類的腎功能。

【0283】 在一些實施方式中，對於輕度腎損害患者（基於Cockcroft-Gault方程的肌酐清除率，CLcr 60-89 mL/分鐘），推薦的麥格司他劑量與腎功能正常的患者相同。

【0284】 在一個或多個實施方式中，rhGAA劑量不針對腎損害患者進行調整。

【0285】 現有的動物藥效學/毒理學數據表明，西帕葡糖苷酶α會分泌到乳中。不知道麥格司他是否分泌到母乳中。不能排除對新生兒/母乳餵養嬰兒的風險。應考慮母乳餵養對發育和健康的益處，以及母親接受西帕葡糖苷酶α和麥格司他共同投與療法的臨床需要，以及母乳餵養的兒童經歷的可能與西帕葡糖苷酶α和麥格司他共同投與或潛在的母體疾病有關的任何不良反應。在一些實施方式中，在服用西帕葡糖苷酶α和麥格司他時不允許母乳餵養。

【0286】 沒有臨床數據表明西帕葡糖苷酶α和麥格司他共同投與治療對生育力的影響。臨床前數據未顯示使用西帕葡糖苷酶α有任何明顯的不良反應。

【0287】 在7名健康成年男性中，每天兩次口服100 mg麥格司他，持續6週，未觀察到對精子濃度、活力或形態的影響。大鼠的臨床前數據表明，麥格司他會對精子特性（活動性和形態）產生負面影響，從而降低生育能力。

【0288】 在一些實施方式中，rhGAA以約5 mg/kg至約20 mg/kg的劑量靜脈內投與並且麥格司他以約50 mg至約600 mg的劑量口服投與。在一些實施方式中，rhGAA以約5 mg/kg至約20 mg/kg的劑量靜脈內投與並且麥格司他以約50 mg至約200 mg的劑量口服投與。在一些實施方式中，rhGAA以約5 mg/kg至約20 mg/kg的劑量靜脈內投與並且麥格司他以約200 mg至約600 mg的劑量口服投與。在一些實施方式中，rhGAA以約5 mg/kg至約20 mg/kg的劑量靜脈內投與並且麥格司他以約200 mg至約500 mg的劑量口服投與。在一個實施方式中，rhGAA以約20 mg/kg的劑量實施靜脈內投與並且將麥格司他以約260 mg的劑量口服投與。在一些實施方式中，rhGAA以約5 mg/kg至約20 mg/kg的劑量靜脈內投與並且麥格司他以約130 mg至約200 mg的劑量口服投與。在一個實施方式中，rhGAA以約20 mg/kg的劑量實施靜脈內投與並且將麥格司他以約195 mg的劑量口服投與。

【0289】 在患有LOPD的成年患者中，投與20 mg/kg西帕葡糖苷酶α與單次

口服劑量260 mg麥格司他後，西帕葡糖苷酶α的血漿濃度-時間曲線下面積（AUC）和最大血漿濃度（Cmax）總結在如下表8中：

**[表8].經歷過ERT的成年LOPD患者中西帕葡糖苷酶α的平均（CV%）藥物動力學參數**

| | **西帕葡糖苷酶α 20 mg/kg與麥格司他 260 mg組合** | **西帕葡糖苷酶α 20 mg/kg 不含麥格司他** |
|---|---|---|
| **$C_{max}$（mcg/mL）** | 345 (18.5) | 325 (13.5) |
| **$AUC_{0-inf}$（mcg*h/mL）** | 1812 (20.8) | 1410 (15.9) |

【0290】在一些實施方式中，同時投與麥格司他和rhGAA。例如，麥格司他可以在投與rhGAA之前或之後的10、9、8、7、6、5、4、3、2或1分鐘內投與。在一些實施方式中，麥格司他在投與rhGAA之前或之後的5、4、3、2或1分鐘內投與。

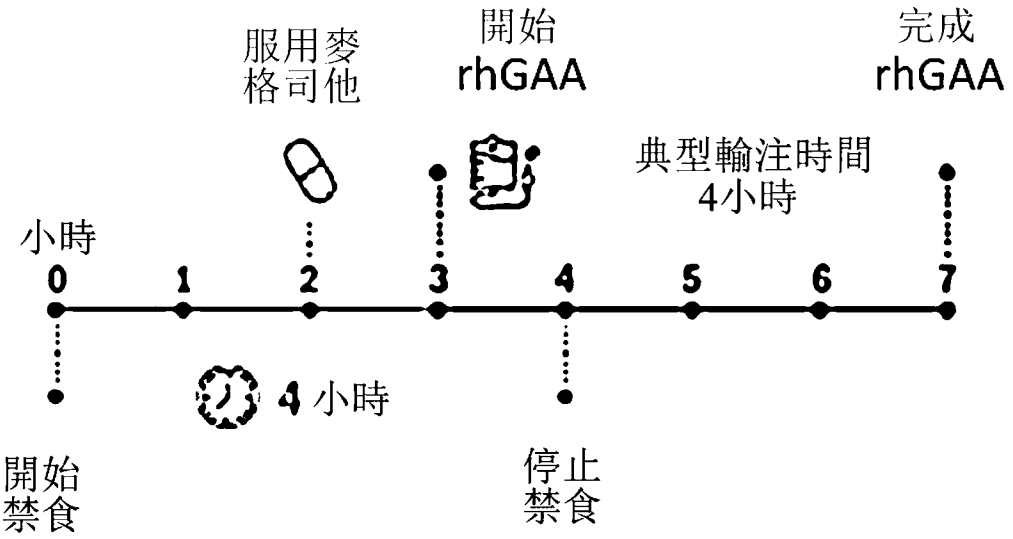
【0291】在一些實施方式中，依次投與麥格司他和rhGAA。在至少一個實施方式中，麥格司他在投與rhGAA之前投與。在至少一個實施方式中，麥格司他在投與rhGAA之前不到三小時投與。在至少一個實施方式中，麥格司他在投與rhGAA之前約兩小時投與。在至少一個實施方式中，麥格司他在投與rhGAA之前50分鐘至90分鐘的範圍內投與。例如，麥格司他可以在投與rhGAA之前約1.5小時、約1小時、約50分鐘、約30分鐘或約20分鐘投與。在至少一個實施方式中，麥格司他在投與rhGAA之前約一小時投與。在某些實施方式中，麥格司他在給藥rhGAA之前約一小時口服投與。

【0292】在一些實施方式中，麥格司他在投與rhGAA之後投與。在至少一個實施方式中，麥格司他在投與rhGAA之後三小時內投與。在至少一個實施方式中，麥格司他在投與rhGAA之後兩小時內投與。例如，麥格司他可以在投與rhGAA之後約1.5小時、約1小時、約50分鐘、約30分鐘或約20分鐘內投與。

【0293】在一些實施方式中，受試者在投與麥格司他之前禁食至少兩小時。在一些實施方式中，受試者在投與麥格司他之後禁食至少兩小時。在一些實施方式中，受試者在投與麥格司他之前禁食至少兩小時和之後禁食至少兩小時。

【0294】在一些實施方式中，受試者在投與麥格司他之前禁食至少兩小時和之後禁食至少兩小時，並且麥格司他在給藥rhGAA之前約一小時投與。在一些實施方式中，禁食、麥格司他投與和rhGAA投與遵循以下給藥時間線：

給藥時間表




【0295】在一些實施方式中，與 (1) 基線或 (2) 包括投與阿葡糖苷酶α和針對酶穩定劑的安慰劑的對照治療相比，根據本揭露之雙組分療法改善患有龐貝氏病的受試者的一個或多個疾病症狀。在這種對照治療中，投與安慰劑代替酶穩定劑。

【0296】本文提供了一種用於使患有龐貝氏病的受試者的運動功能和/或肺功能改善和/或穩定持續至少24個月、至少36個月或至少48個月之方法，該方法包括向該受試者與酶穩定劑同時或依次地投與重組人酸性α-葡糖苷酶（rhGAA）分子群；其中每個rhGAA分子包含七個潛在N-醣基化位點；其中

rhGAA分子上40%-60%的N-聚糖為複合型N-聚糖；其中如使用液相層析串聯質譜(LC-MS/MS)所測定，rhGAA分子在第一潛在N-醣基化位點處包含至少0.5 mol雙-甘露糖-6-磷酸（雙-M6P）/mol rhGAA；並且其中，與基線相比，該方法改善和/或穩定了受試者的運動功能和/或肺功能。

【0297】在一些實施方式中，藉由雙組分療法治療的受試者係經歷過ERT的患者。在一些實施方式中，經歷過ERT的受試者先前已用阿葡糖苷酶α治療。在一些實施方式中，經歷過ERT的受試者先前已用阿葡糖苷酶α治療約2年至約6年。在一些實施方式中，經歷過ERT的受試者先前已用阿葡糖苷酶α治療至少約7年。在一些實施方式中，經歷過ERT的受試者係不能行走的。在一些實施方式中，經歷過ERT的受試者係能行走的。在一些實施方式中，受試者係ERT初治受試者。

【0298】在一些實施方式中，藉由雙組分療法治療的受試者係ERT初治患者。

【0299】在一些實施方式中，根據本揭露之雙組分療法改善和/或穩定受試者的運動功能，如藉由6分鐘步行測試（6MWT）所測量的。在一些實施方式中，與基線相比，在12、26、38或52週後，或在治療12、18、24、30、36或48個月後，受試者的6分鐘步行距離（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%。在一些實施方式中，受試者的6MWD在治療52週後增加至少20米或至少5%。在一些實施方式中，受試者的6MWD在治療12、18、24、30、36或48個月後增加至少20米或至少5%。在一些實施方式中，與對照治療相比，受試者的6MWD在12、26、38或52週後或治療18、24、30、36或48個月後改善至少5、6、7、8、9、10、12、14、16、18、20、30、40或50米。在一些實施方式中，與對照治療相比，受試者的6MWD在治療52週後改善至少13米。在用於治療經歷過ERT的受試者之方法的

一些實施方式中，運動功能藉由6分鐘步行測試來測量；以及在開始治療後12、18、24、30、36或48個月，6分鐘步行距離（6MWD）相對於基線的改善為至少15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34或35米。在用於治療經歷過ERT的受試者之方法的一些實施方式中，運動功能藉由6分鐘步行測試來測量；以及在開始治療後36或48個月，6分鐘步行距離（6MWD）相對於基線的改善為至少5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、41、42、43、44、45、46或47米。

【0300】在用於治療ERT初治受試者之方法的一些實施方式中，運動功能藉由6分鐘步行測試來測量；以及在開始治療後12、24、36或48個月，6分鐘步行距離（6MWD）相對於基線的改善為至少40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59或60米。在用於治療ERT初治受試者之方法的一些實施方式中，運動功能藉由6分鐘步行測試來測量；以及在開始治療後36或48個月，6分鐘步行距離（6MWD）相對於基線的改善為至少34、35、40、41、42、43、44或45米。在一些實施方式中，受試者具有小於300米的基線6MWD。在一些實施方式中，受試者具有大於或等於300米的基線6MWD。

【0301】在一些實施方式中，根據本揭露之雙組分療法穩定受試者的肺功能，如藉由用力肺活量（FVC）測試測量的。在一些實施方式中，在12、26、38或52週後，或在治療18、24、30、36或48個月後，受試者的預測FVC百分比與基線相比增加或與基線相比減少小於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%。在一些實施方式中，在治療52週後，受試者的預測FVC百分比與基線相比減少小於1%。在一些實施方式中，治療12、18、24、30、36或48個月後與基線相比，受試者的預測FVC百分比增加至少1%、至少2%、至少3%或至少5%。在一些實

施方式中，與對照治療相比，受試者的預測FVC百分比在治療後顯著改善和/或穩定。在一些實施方式中，與對照治療相比，在12、26、38或52週後，或治療18、24、30、36或48個月後，受試者的預測FVC百分比顯著改善至少0.5%、1%、2%、3%、4%、5%或6%。在一些實施方式中，與對照治療相比，在治療52週後，受試者的預測FVC百分比顯著改善至少3%。在一些實施方式中，與對照治療相比，在治療12、18、24、30、36或48個月後，受試者的預測FVC百分比顯著改善至少3%或至少5%。在用於治療經歷過ERT的受試者之方法的一些實施方式中，肺功能藉由坐姿用力肺活量（FVC）測試測量，並且在開始治療後24、36或48個月，受試者的預測FVC百分比與基線相比係穩定的。在用於治療ERT初治受試者之方法的一些實施方式中，肺功能藉由坐姿用力肺活量（FVC）測試來測量；以及在開始治療後24個月，受試者的預測FVC百分比相對於基線的改善至少為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%。在用於治療ERT初治受試者之方法的一些實施方式中，肺功能藉由坐姿用力肺活量（FVC）測試來測量；以及在開始治療後36或48個月，受試者的預測FVC百分比相對於基線的改善為至少5.7%、5.8%、5.9%、6.0%、6.1%或6.2%。在一些實施方式中，受試者具有小於55%的基線FVC。在一些實施方式中，受試者具有大於或等於55%的基線FVC。在一些實施方式中，受試者具有小於50%的基線FVC。在一些實施方式中，受試者具有大於或等於50%的基線FVC。

【0302】在一些實施方式中，根據本揭露之雙組分療法改善和/或穩定受試者的肌肉力量，如藉由徒手肌力測試（MMT）測量的。在一些實施方式中，與基線相比，受試者的MMT下肢得分得到改善，如在12、26、38或52週後，或在治療12、18、24、30、36或48個月後，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。在一些實施方式中，與對照治療相比，受試者的MMT下肢得分在治療後顯著改善和/或穩定。在用於治療經歷過ERT的受試者之方法的一些實施方式中，肌肉力量藉由MMT測量；以及在開始治療後24個月，MMT下肢得分相對於基線的改善為至少1.9、2、2.1、2.2或2.3分。在用於治療經歷過ERT的受試者之方法的一些實施方式中，肌肉力量藉由MMT測量；以及在開始治療後36或48個月，MMT下肢得分相對於基線的改善為至少1.5、1.6、1.7、1.8或1.9分。在用於治療ERT初治受試者之方法的一些實施方式中，肌肉力量藉由MMT測量；以及在開始治療後24個月，MMT下肢得分相對於基線的改善為至少1.0、1.1、1.2、1.3、1.4或1.5分。在用於治療ERT初治受試者之方法的一些實施方式中，肌肉力量藉由MMT測量；以及在開始治療後36或48個月，MMT下肢得分相對於基線的改善為至少2.8、2.9、3.0、3.1、3.2或3.3分。在一些實施方式中，受試者具有小於25的基線MMT下肢得分。在一些實施方式中，受試者具有大於或等於25的基線MMT下肢得分。

【0303】在一些實施方式中，根據本揭露之雙組分療法改善和/或穩定受試者的運動功能，如藉由步態、樓梯、高爾斯、椅子（GSGC）測試所測量的。在一些實施方式中，與基線相比，受試者的GSGC得分改善，如在12、26、38或52週後，或在治療18、24、30、36或48個月後，減少至少0.1、0.3、0.5、0.7、1.0、1.5或2.5分所示。在一些實施方式中，與基線相比，受試者的GSGC得分改善，如治療52週後至少減少0.5分所示。在一些實施方式中，與對照治療相比，受試者的GSGC得分在治療後顯著改善。在一些實施方式中，與對照治療相比，受試者的GSGC得分顯著改善，如在12、26、38或52週後，或在治療18、24、30、36或48個月後，減少至少0.3、0.5、0.7、1.0、1.5、2.5或5分所示。在一些實施方式中，與對照治療相比，受試者的GSGC得分顯著改善，如治療52週後減少至少1.0分所示。

【0304】在一些實施方式中，根據本揭露之雙組分療法改善受試者的心臟功能。在一些實施方式中，該療法改善了受試者的心臟功能，如藉由左心室質量指數（LVMi）測量的。

【0305】在一些實施方式中，根據本揭露之雙組分療法在治療後降低至少一種肌肉損傷標誌物的水平。在一些實施方式中，肌肉損傷標誌物包括肌酸激酶（CK）、丙胺酸轉胺酶（ALT）和天冬胺酸轉胺酶（AST）中的一種或多種。在一些實施方式中，至少一種肌肉損傷標誌物包括CK。在一些實施方式中，與基線相比，受試者的CK水平在12、26、38或52週後，或在治療18、24、30或36個月後降低至少10%、15%、20%、25%、30%、40%或50%。在一些實施方式中，與基線相比，受試者的CK水平在治療52週後降低至少20%。在一些實施方式中，與對照治療相比，受試者的CK水平在治療後顯著降低。在一些實施方式中，與對照治療相比，受試者的CK水平在12、26、38或52週後，或在治療18、24、30或36個月後顯著降低至少10%、15%、20%、25%、30%、40%或50%。在一些實施方式中，與對照治療相比，受試者的CK水平在治療52週後顯著降低至少30%。

【0306】在一些實施方式中，根據本揭露之雙組分療法在治療後降低至少一種肝醣累積標誌物的水平。在一些實施方式中，肝醣累積的至少一種標誌物包括尿己糖四糖（Hex4）。在一些實施方式中，與基線相比，受試者的尿Hex4水平在12、26、38或52週後，或在治療18、24、30或36個月後降低至少10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%或60%。在一些實施方式中，與基線相比，受試者的尿Hex4水平在治療52週後降低至少30%。在一些實施方式中，與對照治療相比，受試者的尿Hex4水平在治療後顯著降低。在一些實施方式中，與對照治療相比，受試者的尿Hex4水平在12、26、38或52週後，或在治療18、24、30或36個月後顯著降低至少10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%或60%。在一些實施方式中，與對照治療相比，受試者的尿Hex4水平在治療52週後顯著降低

至少40%。

【0307】在一些實施方式中，與 (1) 基線或 (2) 包括投與阿葡糖苷酶α和酶穩定劑安慰劑的對照治療相比，根據本揭露之雙組分療法改善和/或穩定經歷過ERT的龐貝氏病的患者受試者中的一個或多個疾病症狀。

【0308】在一些實施方式中，根據本揭露之雙組分療法改善生活品質和/或患者報告的結果測量，諸如藉由歐洲生活品質-五維五水平（EQ 5D 5L/EQ-5D-Y）問卷和/或患者報告結果測量資訊系統（PROMIS身體功能、PROMIS疲勞、PROMIS呼吸困難）。

【0309】在一些實施方式中，根據本揭露之雙組分療法減少、延遲和/或維持使用者對移動或呼吸支持裝置的需求，諸如藉由監測移動輔助裝置的使用開始時間/變化和裝置類型和/或監測呼吸支持的使用開始時間/變化和支持類型。

【0310】在一些實施方式中，如藉由6MWT測量的，用於患有龐貝氏病的經歷過ERT的受試者的雙組分療法改善和/或穩定受試者的運動功能。在一些實施方式中，與基線相比，在12、26、38或52週後，或在治療18、24、30、36或48個月後，受試者的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%。在一些實施方式中，受試者的6MWD在治療52週後增加至少15米或至少5%。在一些實施方式中，受試者的6MWD在治療24個月後增加至少25米或至少6%。在一些實施方式中，受試者的6MWD在治療36個月後增加至少10米或至少2%。在一些實施方式中，受試者的6MWD在治療52週後增加至少20米或至少5%。在一些實施方式中，與對照治療相比，受試者的6MWD在治療後顯著改善。在一些實施方式中，與對照治療相比，在12、26、38或52週後或治療18、24、30、36或48個月後，受試者的6MWD顯著改善至少10、12、14、15、16、18、20、30、40或50米。在一些實施方式中，與對照治療相比，受試

者的6MWD在治療52週後顯著改善至少15米。在一些實施方式中，受試者具有小於300米的基線6MWD。在一些實施方式中，受試者具有大於或等於300米的基線6MWD。

【0311】在一些實施方式中，如藉由FVC測試測量，用於患有龐貝氏病的經歷過ERT的受試者的雙組分療法改善和/或穩定受試者的肺功能。在一些實施方式中，在12、26、38或52週後，或在治療18、24、30、36或48個月後，受試者的預測FVC百分比與基線相比增加至少0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、1%、2%、3%、4%或5%。在一些實施方式中，在治療52週後，受試者的預測FVC百分比與基線相比增加至少0.1%。在一些實施方式中，與對照治療相比，受試者的預測FVC百分比在治療後顯著改善和/或穩定。在一些實施方式中，與對照治療相比，在12、26、38或52週後，或治療18、24、30、36或48個月後，受試者的預測FVC百分比顯著改善至少1%、2%、3%、4%、5%、6%、8%或10%。在一些實施方式中，與對照治療相比，在治療52週後，受試者的預測FVC百分比顯著改善至少4%。在一些實施方式中，受試者具有小於55%的基線FVC。在一些實施方式中，受試者具有大於或等於55%的基線FVC。

【0312】在一些實施方式中，如藉由GSGC測試測量，用於患有龐貝氏病的經歷過ERT的受試者的雙組分療法改善和/或穩定受試者的運動功能。在一些實施方式中，與基線相比，受試者的GSGC得分改善，如在12、26、38或52週後，或在治療18、24、30、36或48個月後，減少至少0.1、0.3、0.5、0.7、1.0、1.5或2.5分所示。在一些實施方式中，與基線相比，受試者的GSGC得分改善，如治療52週後至少減少0.5分所示。在一些實施方式中，與對照治療相比，受試者的GSGC得分在治療後顯著改善和/或穩定。在一些實施方式中，與對照治療相比，受試者的GSGC得分顯著改善，如在12、26、38或52週後，或在治療18、24、30、36或48個月後，減少至少0.3、0.5、0.7、1.0、1.5、2.5或5分所示。在一些實施方

式中，與對照治療相比，受試者的GSGC得分顯著改善，如治療52週後減少至少1.0分所示。

【0313】在一些實施方式中，用於患有龐貝氏病的經歷過ERT的受試者的雙組分療法降低治療後肌肉損傷的至少一種標誌物的水平。在一些實施方式中，至少一種肌肉損傷標誌物包括CK。在一些實施方式中，與基線相比，受試者的CK水平在12、26、38或52週後，或在治療18、24、30、36或48個月後降低至少10%、15%、20%、25%、30%、40%或50%。在一些實施方式中，與基線相比，受試者的CK水平在治療52週後降低至少15%。在一些實施方式中，與基線相比，受試者的CK水平在治療24個月後降低至少25%。在一些實施方式中，與基線相比，受試者的CK水平在治療36個月後降低至少30%。在一些實施方式中，與基線相比，受試者的CK水平在治療48個月後降低至少35%。在一些實施方式中，與對照治療相比，受試者的CK水平在治療後顯著降低。在一些實施方式中，與對照治療相比，受試者的CK水平在12、26、38或52週後，或在治療18、24、30、36或48個月後顯著降低至少10%、15%、20%、25%、30%、40%或50%。在一些實施方式中，與對照治療相比，受試者的CK水平在治療52週後顯著降低至少30%。

【0314】在一些實施方式中，用於患有龐貝氏病的經歷過ERT的受試者的雙組分療法降低治療後肝醣累積的至少一種標誌物的水平。在一些實施方式中，肝醣累積的至少一種標誌物包括尿Hex4。在一些實施方式中，與基線相比，受試者的尿Hex4水平在12、26、38或52週後，或在治療18、24、30或36個月後降低至少10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%或60%。在一些實施方式中，與基線相比，受試者的尿Hex4水平在治療52週後降低至少25%。在一些實施方式中，與基線相比，受試者的尿Hex4水平在治療36個月後降低至少35%。在一些實施方式中，與基線相比，受試者的尿Hex4水平在治療48個月後降低至少

30%。在一些實施方式中，與對照治療相比，受試者的尿Hex4水平在治療後顯著降低。在一些實施方式中，與對照治療相比，受試者的尿Hex4水平在12、26、38或52週後，或在治療18、24、30或36個月後顯著降低至少10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%或60%。在一些實施方式中，與對照治療相比，受試者的尿Hex4水平在治療52週後顯著降低至少40%。

**E.套組**

【0315】本揭露之另一個方面關於適用於進行本文所述之rhGAA治療的套組（kit）。在一個或多個實施方式中，該套組包括含有rhGAA或藥物組成物（凍乾前或後）的容器（例如，小瓶、管、袋等）以及重構、稀釋和投與的說明書。在一個或多個實施方式中，該套組包括含有酶穩定劑（例如麥格司他）和含rhGAA的藥物組成物（凍乾前或凍乾後）的容器（例如小瓶、管、袋等），以及rhGAA與酶穩定劑重構、稀釋和投與的說明書。

## 實例

【0316】本發明藉由以下非限制性實施方式進一步說明。

**實例1：產生具有高含量的帶有單-M6P或雙-M6P的N-聚糖的rhGAA的CHO細胞的製備。**

【0317】用表現rhGAA的DNA構建體轉染DG44 CHO（DHFR-）細胞。DNA構建體如圖4所示。轉染後，使用次黃嘌呤/胸苷缺乏（-HT）培養基選擇含有穩定整合的GAA基因的CHO細胞。胺甲喋呤處理（MTX，500 nM）來誘導在該等細胞中的GAA表現的擴增。

【0318】藉由GAA酶活性測定來鑒定大量表現的GAA的細胞池，並且用於建立產生rhGAA的單個植株。在半固體培養基板上產生單個植株，藉由ClonePix系統挑選，並且轉移至24深孔板。針對GAA酶活性測定單個植株，以鑒定表現

高水平GAA的植株。用於確定GAA活性的條件培養基使用了4-MU-α-葡糖苷酶底物。針對生存力、生長能力、GAA生產率、N-聚糖結構和穩定的蛋白表現來進一步評估如藉由GAA酶測定所測量的產生更高水平的GAA的植株。CHO細胞系（包括CHO細胞系GA-ATB200，表現具有增強的單-M6P或雙-M6P N-聚糖的rhGAA）係使用該程序分離的。

**實例2：rhGAA的純化**

【0319】使用CHO細胞系GA-ATB200在搖瓶和天後生物反應器中生產根據本揭露之多批次rhGAA，其產品稱為「ATB200」。根據末端磷酸鹽和唾液酸，弱陰離子交換（「WAX」）液相層析用於分級分離ATB200 rhGAA。藉由用遞增量的鹽洗脫ERT來產生洗脫圖。藉由UV（A280 nm）監測該圖。對於來自不同生產批次的純化ATB200 rhGAA，觀察到類似的CIMPR受體結合（至少約70%）分佈圖（圖5），表明可以一致地生產ATB200 rhGAA。

**實例3：ATB200 rhGAA的寡糖特性**

【0320】使用不同的LC-MS/MS分析技術分析ATB200 rhGAA的位點特異性N-聚糖譜。前兩種LC-MS/MS方法的結果如圖6A-6H所示。具有2-AA聚糖圖譜的第三種LC-MS/MS方法的結果顯示在圖19A-19H、圖20A-20B和表9中。

【0321】在第一LC-MS/MS分析中，蛋白質在LC-MS/MS分析之前進行了變性、還原、烷基化和消化。在蛋白質變性和還原過程中，200 μg蛋白質樣本、5 μL 1 mol/L tris-HCl（終濃度50 mM）、75 μL 8 mol/L胍HCl（終濃度6 M）、1 μL 0.5 mol /L EDTA（終濃度5 mM）、2 μL的1 mol/L DTT（終濃度20 mM）和Milli-Q®水添加到1.5 mL試管中以提供100 μL的總體積。在乾浴中，將該樣本混合，並且在56°C下孵育30分鐘。在烷基化過程中，將變性和還原的蛋白質樣本與5 μL的1 mol/L碘乙醯胺（IAM，終濃度50 mM）混合，然後在10-30°C下避光孵育30分鐘。烷基化作用之後，將400 μL預冷的丙酮添加至該樣本中，並且將該

混合物在-80°C製冷中冷凍4小時。然後將該樣本以13000 rpm在4ºC下離心5 min，並且去除該上清液。將400 μL預冷的丙酮添加至球粒中，然後將其以13000 rpm在4ºC下離心5 min，並且去除該上清液。然後將該樣本在黑暗中，在冰上風乾以去除丙酮殘餘。將四十微升的8M脲和160 μL 100 mM $NH_4HCO_3$添加到樣本中以溶解蛋白質。在胰蛋白酶消化過程中，然後將50 μg蛋白質與胰蛋白酶消化緩衝液一起添加至100 μL的最終體積，並添加5 μL 0.5 mg/mL胰蛋白酶（蛋白質比酶的比例為20/1 w/w）。將溶液充分混合並在37°C下孵育過夜（16 ± 2小時）。添加兩點五微升的20% TFA（終濃度0.5%）以淬滅反應。然後使用Thermo Scientific™ Orbitrap Velos Pro™質譜儀分析樣本。

【0322】 在第二LC-MS/MS分析中，根據類似的變性、還原、烷基化和消化程序製備ATB200樣本，不同之處係使用碘乙酸（IAA）代替IAM作為烷基化試劑，然後使用Thermo Scientific™ Orbitrap Fusion™ Lumos Tribid™質譜儀進行分析。

【0323】 第一分析和第二分析的結果顯示在圖6A-6H中。在圖6A-6H中，第一分析的結果由左柱（深灰色）表示，第二分析的結果由右柱（淺灰色）表示。聚糖表示的符號命名法與Varki, A., Cummings, R.D., Esko J.D.,等人, Essentials of Glycobiology[糖生物學精要], 第2版 (2009)一致。

【0324】 從圖6A-6H可以看出，兩種分析提供了相似的結果，儘管結果之間存在一些差異。該變化可以歸因於多個因素，包括使用的儀器和N-聚糖分析的完整性。例如，如果某些種類的磷酸化N-聚糖未被鑒定和/或未被定量，則磷酸化N-聚糖的總數可能被低估，並且在該位點處攜帶磷酸化N-聚糖的rhGAA的百分比可能被低估。作為另一個實例，如果某些種類的非磷酸化N-聚糖未被鑒定和/或定量，那麼非磷酸化N-聚糖的總數可能被低估，並且在該位點處帶有磷酸化N-聚糖的rhGAA的百分比可能被高估。

【0325】 圖6A顯示了ATB200之N-醣基化位點佔據率。從圖6A可以看出，第一、第二、第三、第四、第五和第六N-醣基化位點大部分被佔據，兩種分析都檢測到約90%或超過90%以及高達約100%的ATB200酶在每潛在N-醣基化位點檢測到N-聚糖。然而，第七潛在N-醣基化位點大約有一半時間係N-醣基化的。

【0326】 圖6B顯示了第一潛在N-醣基化位點N84之N-醣基化譜。從圖6B可以看出，主要的N-聚糖種類係雙-M6P N-聚糖。第一分析和第二分析均檢測到超過75%的ATB200在第一個位點處具有雙-M6P，對應於在第一個位點處平均約0.8 mol雙-M6P/mol ATB200。

【0327】 圖6C顯示了第二潛在N-醣基化位點N177處之N-醣基化譜。從圖6C可以看出，主要的N-聚糖種類係單-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檢測到超過40%的ATB200在第二位點具有單-M6P，對應於在第二位點處平均約0.4至約0.6 mol單-M6P/mol ATB200。

【0328】 圖6D顯示了第三潛在N-醣基化位點N334處之N-醣基化譜。從圖6D可以看出，主要的N-聚糖種類係非磷酸化的高甘露糖N-聚糖、二觸角、三觸角和四觸角複合N-聚糖，以及雜合N-聚糖。第一分析和第二分析均檢測到超過20%的ATB200在第三位點具有唾液酸殘基，對應於在第三位點處平均約0.9至約1.2 mol唾液酸/mol ATB200。

【0329】 圖6E顯示了第四潛在N-醣基化位點N414處之N-醣基化譜。從圖6E可以看出，主要的N-聚糖種類係雙-M6P和單-M6P N-聚糖。第一分析和第二分析均檢測到超過40%的ATB200在第四位點具有雙-M6P，對應於在第四位點處平均約0.4至約0.6 mol雙-M6P/mol ATB200。第一分析和第二分析均還檢測到超過25%的ATB200在第四位點具有單-M6P，對應於在第四位點處平均約0.3至約0.4 mol單-M6P/mol ATB200。

【0330】 圖6F顯示了第五潛在N-醣基化位點N596處之N-醣基化譜。從圖

6F可以看出，主要的N-聚糖種類係岩藻醣基化的雙觸角複合N-聚糖。第一分析和第二分析均檢測到超過70%的ATB200在第五位點具有唾液酸殘基，對應於在第五位點處平均約0.8至約0.9 mol唾液酸/mol ATB200。

【0331】 圖6G顯示了第六潛在N-醣基化位點N826處之N-醣基化譜。從圖6G中可以看出，主要的N-聚糖種類係二觸角、三觸角和四觸角複合N-聚糖。第一分析和第二分析均檢測到超過80%的ATB200在第六位點具有唾液酸殘基，對應於在第六位點處平均約1.5至約1.8 mol唾液酸/mol ATB200。

【0332】 對第七個位點N869的N-醣基化分析顯示大約40% N-醣基化，最常見的N-聚糖係A4S3S3GF（12%）、A5S3G2F（10%）、A4S2G2F（8%）和A6S3G3F（8%）。

【0333】 圖6H顯示了七個潛在N-醣基化位點中每一個的磷酸化總結。從圖6H可以看出，第一分析和第二分析都在第一、第二和第四潛在N-醣基化位點處檢測到高磷酸化水平。兩項分析均檢測到超過80%的ATB200在第一個位點處被單磷酸化或雙磷酸化，超過40%的ATB200在第二個位點處被單磷酸化，超過80%的ATB200在第四個網站處被單磷酸化或雙磷酸化。

【0334】 ATB200的另一個N-醣基化分析係根據如下所述之LC-MS/MS方法進行的。該分析產生十批ATB200的平均N-醣基化譜（圖19A-19H，圖20A-20B）。

【0335】 來自ATB200的N-連接聚糖用PNG酶-F酶促釋放並用2-鄰胺基苯甲酸（2-AA）標記。2-AA標記的N-聚糖藉由固相萃取（SPE）進一步處理，以去除過量的鹽和其他污染物。將純化的2-AA N-聚糖溶解在乙腈/水（20/80；v/v），並將10微克裝載到胺基聚合物分析柱（apHera™，Supelco）上，用於具有螢光檢測的高效液相層析（HPLC-FLD）和高解析度質譜（HRMS）分析。

【0336】 液相層析（LC）分離在正相條件下以梯度洗脫模式進行，流動相

A（乙腈中的2%乙酸）和流動相B（5%乙酸；20毫莫耳乙酸銨水溶液，用氫氧化銨調節至pH 4.3）。初始流動相組成為70% A/30% B。對於螢光檢測，檢測器（RF-20Axs，Shimadzu）的參數為激發（Ex）：320 nm；發射（Em）：420 nm。使用以獨立數據獲取（IDA）模式運行的四極飛行時間質譜儀（Sciex X500B QTOF）進行HRMS分析。使用ProteoWizard的MSConvert將獲取的數據檔案轉換為mzML檔，然後使用GRITS Toolbox 1.2 Morning Blend軟體（UGA）進行聚糖數據庫搜索和隨後對鑒定的N-聚糖進行注釋。使用先質單同位素質量（m/z）和產物離子m/z鑒定N-聚糖。使用GlycoWorkbench 2應用程式在電腦上確認實驗產物離子和碎裂模式。

【0337】 為了確定來自ATB200的N-連接聚糖的相對定量，按如下方式處理從HPLC-FLD-QTOF MS/MS實驗中獲取的數據。對FLD層析圖中的所有N-聚糖峰進行積分，並為每個峰指定占FLD層析圖中所有峰總面積的百分比。以峰面積表示的螢光信號係樣本中每種N-聚糖數量的定量測量。然而，在大多數情況下，同一個FLD峰中包含多個N-聚糖種類。因此，還需要質譜儀數據以獲得每種N-聚糖種類的相對定量（表9）。從數據中「提取」每個N-聚糖的離子強度信號以創建稱為提取離子層析圖（XIC）的層析峰。XIC與FLD層析峰對齊，並且僅針對一個N-聚糖種類。然後對從離子強度信號產生的XIC峰進行積分，該峰面積係存在的聚糖量的相對定量測量。FLD峰面積和質譜儀XIC峰面積均用於實現本文報導的ATB200的所有N-連接聚糖種類的相對定量。

【0338】 該LC-MS/MS分析的結果在下表9中提供。聚糖表示的符號命名法與以下一致：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-聚糖的異常醣基化]Biochimica et Biophysica Acta.[生物化學與生物物理學報] 1762:598-607; Gornik O等人 2007.Changes of serum glycans during sepsis and acute pancreatitis.[膿

毒症和急性胰腺炎期間血清聚糖的變化]Glycobiology.[糖生物學] 17:1321-1332; Kattla JJ等人 2011.Biologic protein glycosylation.[生物蛋白質醣基化]在：Murray Moo-Young（編輯），Comprehensive Biotechnology[綜合生物技術], 第二版, 3:467-486；Tharmalingam-Jaikaran T等人 N-glycan profiling of bovine follicular fluid at key dominant follicle developmental stages[牛卵泡液在關鍵顯性卵泡發育階段的N-聚糖分析]。2014. Reproduction.[生殖] 148:569-580; Clerc F等人 Human plasma protein N-glycosylation.[人血漿蛋白N-醣基化] 2015. Glycoconj J. DOI 10.1007/s10719-015-9626-2; 和 Blackler RJ 等人 2016.Single-chain antibody-fragment M6P-1 possesses a mannose 6-phosphate monosaccharide-specific binding pocket that distinguishes N-glycan phosphorylation in a branch-specific manner.[單鏈抗體片段M6P-1具有甘露糖6-磷酸單糖特異性結合口袋，其以分支特異性方式區分N-聚糖磷酸化]Glycobiology.[糖生物學] 26-2:181-192.

**[表9]：基於2-AA聚糖圖譜和LC-MS/MS鑒定在ATB200上鑒定的寡糖的類型和普遍性**

| 高甘露糖 N-聚糖 | % 總計 | 複合 N-聚糖 | % 總計 | 複合 N-聚糖 | % 總計 | 複合 N-聚糖 | % 總計 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 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 |
| | | | | | | | |
| **雜合N-聚糖** | **%總計** | 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 |
| | | | | | | | |
| **發明內容** | **總計** | 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 |
| **雜合N-聚糖** | 5% | FA2G2S2+2Ac | 0.76 | FA4G4(1LN)S4 | 0.31 | A2G2S1+1Ac | 0.09 |
| **複合N-聚糖** | 57% | A4G4S2 | 0.69 | A3G3S3 | 0.29 | FA3G1S1 | 0.06 |

【0339】基於這種2-AA和LC-MS/MS分析，並且如進一步總結的，測試的ATB200具有平均3-5 mol M6P含量/mol ATB200（考慮單-M6P和雙-M6P）和4-7 mol唾液酸含量/mol ATB200。

【0340】如圖19A-19H和圖20B所示，ATB200的第一潛在N-醣基化位點具有約1.4 mol M6P/mol ATB200的平均M6P含量，考慮約0.25 mol單-M6P/mol ATB200的平均單-M6P含量和約0.56 mol雙-M6P/mol ATB200的平均雙-M6P含量；ATB200的第二潛在N-醣基化位點具有約0.5 mol M6P/mol ATB200的平均M6P含量，主要的磷酸化N-聚糖種類係單-M6P N-聚糖；ATB200的第三潛在N-

醣基化位點具有約1 mol唾液酸/mol ATB200的平均唾液酸含量；ATB200的第四潛在N-醣基化位點具有約1.4 mol M6P/mol ATB200的平均M6P含量，考慮約0.35 mol單-M6P/mol ATB200的平均單-M6P含量和約0.52 mol雙-M6P/mol ATB200的平均雙-M6P含量；ATB200的第五潛在N-醣基化位點具有約0.86 mol唾液酸/mol ATB200的平均唾液酸含量；ATB200的第六潛在N-醣基化位點具有約4.2 mol唾液酸/mol ATB200的平均唾液酸含量；以及ATB200的第七潛在N-醣基化位點具有約0.86 mol唾液酸/mol ATB200的平均唾液酸含量。

【0341】 同樣根據這種2-AA和LC-MS/MS分析技術，ATB200的第一潛在N-醣基化位點處平均約65%的N-聚糖係高甘露糖N-聚糖、ATB200的第二潛在N-醣基化位點處約89%的N-聚糖係高甘露糖N-聚糖、ATB200的第三潛在N-醣基化位點處一半以上的N-聚糖被唾液酸化（近20%被完全唾液酸化）並且ATB200的第三潛在N-醣基化位點處約85%的N-聚糖係複合N-聚糖、ATB200的第四潛在N-醣基化位點處約84%的N-聚糖係高甘露糖N-聚糖、ATB200的第五潛在N-醣基化位點處約70%的N-聚糖被唾液酸化（約26%被完全唾液酸化）並且ATB200的第五潛在N-醣基化位點處約100%的N-聚糖係複合N-聚糖、ATB200的第六潛在N-醣基化位點處約85%的N-聚糖被唾液酸化（近27%被完全唾液酸化）並且ATB200的第六潛在N-醣基化位點處約98%的N-聚糖係複合N-聚糖，並且ATB200的第七潛在N-醣基化位點處約87%的N-聚糖被唾液酸化（近8%被完全唾液酸化）並且ATB200的第七潛在N-醣基化位點處約100%的N-聚糖係複合N-聚糖。

**實例4：ATB200和MYOZYME®/ LUMIZYME®的分析比較**

【0342】 純化的ATB200和LUMIZYME® N-聚糖藉由MALDI-TOF進行評估，以確定每個ERT上發現的單個N-聚糖結構。LUMIZYME®係從商業來源獲得的。如圖7所示，ATB200在LUMIZYME®的右側顯示出四個突出的峰洗脫。這證實ATB200比LUMIZYME®的磷酸化程度更大，因為該評估係藉由末端電荷

而不是CIMPR親和力進行的。如圖8中總結的那樣，發現ATB200樣本含有比LUMIZYME®更低量的非磷酸化高甘露糖型N-聚糖。

【0343】為了評估MYOZYME®和LUMIZYME®中的常規rhGAA與CIMPR相互作用的能力，將兩種常規rhGAA製劑注射到CIMPR親和柱（其結合具有M6P基團的rhGAA）上並收集流過物。結合的物質用游離M6梯度洗脫。在96孔板中收集級分，並藉由4MU-α-葡糖苷酶底物測定GAA活性。基於GAA活性確定未結合（流過）和結合（M6P洗脫）rhGAA的相對量，並報告為總酶的分數。圖9A和9B顯示了在MYOZYME®和LUMIZYME®中rhGAA的結合譜：MYOZYME®（圖9B）中73%的rhGAA和LUMIZYME®（圖9A）中78%的rhGAA不與CIMPR結合。事實上，MYOZYME®中只有27%的rhGAA和LUMIZYME®中只有22%的rhGAA含有可以有效地將其靶向肌肉細胞上的CIMPR的M6P。相比之下，如圖5所示，在相同條件下，發現ATB200中超過70%的rhGAA與CIMPR結合。

【0344】除了具有可以結合CIMPR的更大百分比的rhGAA之外，重要的是理解該相互作用的品質。LUMIZYME®和ATB200受體結合使用CIMPR板結合測定法確定。簡言之，使用CIMPR-包被的板來捕獲GAA。將不同濃度的rhGAA應用於固定的受體，並且洗去未結合的rhGAA。藉由GAA活性來確定剩餘rhGAA的量。如圖10所示，ATB200與CIMPR的結合明顯優於LUMIZYME®。

【0345】總體而言，ATB200中的M6P N-聚糖含量高於LUMIZYME®，這表明ATB200中較高比例的rhGAA分子可以靶向肌肉細胞。如上所示，由MALDI確定的高百分比單磷酸化和雙磷酸化結構與CIMPR譜一致，這表明ATB200與CIMPR受體的結合顯著增強。經由MALDI-TOF質譜分析法的N-聚糖分析證實了平均每個ATB200分子包含至少一個中性的雙-M6P N-聚糖結構。ATB200上這種較高的雙-M6P N-聚糖含量與M6P受體板結合測定中與CIMPR的高親和力結合

直接相關（$K_D$約2-4 nM）。

【0346】使用正常和龐貝氏病成纖維細胞系比較ATB200和LUMIZYME® rhGAA的相對細胞攝取。比較關於根據本揭露之5-100 nM ATB200與10-500 nM常規rhGAA產品LUMIZYME®。16-hr孵育之後，用TRIS鹼將外部rhGAA滅活，並且在收穫細胞之前用PBS將細胞洗滌3次。藉由4MU-α-葡糖苷水解測量內化的GAA，並相對於總細胞蛋白質作圖，結果出現在圖11A-11C中。

【0347】ATB200也被證明可以有效地內化到細胞中。如圖11A-11B所示，ATB200被內化到正常和龐貝氏病成纖維細胞中，並且被內化到比常規rhGAA產物LUMIZYME®更高的程度。ATB200在約20 nM時使細胞受體飽和，而使細胞受體飽和需要約250 nM的LUMIZYME®。從該等結果推斷的攝取效率常數（$K_{攝取}$）對於ATB200為2-3 nm，對於LUMIZYME®為56 nM，如圖11C所示。該等結果表明ATB200係一種針對龐貝氏病的靶向治療藥物。

**實例5：ATB200和酶穩定劑**

【0348】ATB200在酸性或中性pH緩衝液中的穩定性在使用SYPRO橙色的熱穩定性測定中評估，因為當蛋白質變性時染料的螢光增加。如圖12所示，添加麥格司他以濃度依賴性方式在pH 7.4將ATB200穩定，與ATB200在pH 5.2（模擬溶酶體酸性環境的條件）下的穩定性相當。如表10中總結的，添加麥格司他使ATB200的熔化溫度（*Tm*）增加了將近10°C。

**[表10]. 用麥格司他時ATB200的穩定性**

| 測試條件 | Tm（°C） |
|---|---|
| pH 7.4 | 56.2 |
| pH 7.4 + 10 μM 麥格司他 | 61.6 |
| pH 7.4 + 30 μM 麥格司他 | 62.9 |
| pH 7.4 + 100 μM 麥格司他 | 66.0 |
| pH 5.2 | 67.3 |

**實例6：*Gaa* KO小鼠中ATB200和麥格司他的共同投與**

【0349】在*Gaa* KO小鼠中，評估了ATB200和麥格司他的治療效果，並與阿葡糖苷酶α的治療效果進行了比較。在這項研究中，使用了雄性*Gaa* KO（3至4個月大）和年齡匹配的野生型（WT）小鼠。阿葡糖苷酶α藉由推注尾靜脈靜脈內（IV）注射投與。在共同投與方案中，在IV注射ATB200之前30分鐘藉由口服強飼法（PO）投與麥格司他。每兩週進行治療。在最後一次投與14天後處死經處理的小鼠，並收集各種組織用於進一步分析。表11總結了研究設計：

**[表11]. 共同投與研究設計**

| 基因型 | 治療 | 藥物劑量/投與（每兩週） | 投與次數 |
|---|---|---|---|
| *Gaa* KO | 媒劑 | N/A | 6 |
| *Gaa* KO | 阿葡糖苷酶α | 20 mg/kg | 6 |
| *Gaa* KO | ATB200/麥格司他 | 20 mg/kg（ATB200）<br>10 mg/kg（麥格司他） | 6 |
| WT（Sve 129） | 未處理 | N/A | N/A |

【0350】如上所述，使用澱粉葡糖苷酶消化測定組織樣本中的組織肝醣含量。如圖13所示，與相同劑量的阿葡糖苷酶α相比，20 mg/kg ATB200和10 mg/kg麥格司他的組合顯著降低了四種不同組織（股四頭肌、三頭肌、腓腸肌和心臟）中的肝醣含量。

【0351】還按照以下討論之方法分析了組織樣本的生物標誌物變化：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,[藥理學伴侶AT2220增加龐貝氏病小鼠模型中重組人酸性α-葡糖苷酶的攝取和肝醣減少]」Plos One[公共科學圖書館-綜合] 7(7): e40776; 和Khanna, R等人 (2014), 「The Pharmacological Chaperone AT2220 Increases the

Specific Activity and Lysosomal Delivery of Mutant Acid α-Glucosidase, and Promotes Glycogen Reduction in a Transgenic Mouse Model of Pompe Disease,[藥理學伴侶AT2220增加突變酸性α-葡糖苷酶的比活性和溶酶體遞送，並促進龐貝氏病轉基因小鼠模型中的肝醣減少]」 PLoS ONE[公共科學圖書館-綜合] 9(7): e102092。如圖14所示，與WT相比，在*Gaa* KO動物的肌纖維中觀察到LAMP1陽性囊泡的顯著增加和擴大，表明溶酶體增殖。ATB200/麥格司他的共同投與導致更多的LAMP1水平正常的纖維，而剩餘的LAMP1陽性囊泡也在尺寸上減小（插圖）。

【0352】 同樣，未治療的*Gaa* KO小鼠的肌肉纖維中強烈的LC3陽性聚集體表明存在自噬區和自噬積聚。與用阿葡糖苷酶α治療的小鼠相比，在用ATB200/麥格司他共同投與治療的小鼠中，LC3陽性聚集體（紅色）優先減少（圖15A）。當使用西方墨點法評估LC3的表現時，進行了類似的觀察。如圖15B所示，用ATB200/麥格司他治療的大多數動物顯示出LC3 II（與自噬體相關的脂化形式）水平的顯著降低，表明自噬通量有所改善。相比之下，阿葡糖苷酶α對自噬的影響不大。

【0353】 也評估了戴斯富林蛋白（一種參與膜修復的蛋白質，其缺陷/錯誤運輸與許多肌營養不良症有關）。如圖16所示，戴斯富林蛋白（棕色）大量積聚在*Gaa* KO小鼠的肌漿中。與阿葡糖苷酶α相比，ATB200/麥格司他能夠將戴斯富林蛋白恢復到更多肌纖維中的肌膜。

【0354】 該等數據與接受ATB200和麥格司他治療的人類龐貝氏病患者所顯示出的細胞水平改善一致（例如，患者表現出肝醣累積和肌肉損傷的生物標誌物水平降低），這不僅能有效治療龐貝氏病，還能逆轉疾病進展。人龐貝氏病患者的臨床數據總結於下文的實例8和9中。

**實例7：單纖維分析**

【0355】如圖17所示，大多數經媒劑治療的小鼠顯示溶酶體明顯增大（參見，例如「B」）和大量自噬積聚的存在（參見，例如「A」）。經MYOZYME®治療的小鼠與經媒劑治療的小鼠相比未顯示出任何顯著差異。相比之下，從用ATB200治療的小鼠中分離出的大多數纖維顯示溶酶體大小顯著減小（參見，例如，「C」）。此外，具有自噬積聚的區域也有不同程度的減少（例如，參見「C」）。結果，從經ATB200治療的小鼠中分析的很大一部分肌肉纖維（36-60%）看起來正常或接近正常。下面的表12總結了圖17中所示的單纖維分析。

**[表12]. 單纖維分析**

| 治療 | 分析的動物 | 分析的纖維總數（n） | 溶酶體增大 | 具有自噬積聚的纖維 | 外觀正常或接近正常的纖維 |
|---|---|---|---|---|---|
| WT | 2 | 65 | - | - | 100% |
| 媒劑 | 2 | 65 | + | > 90% | < 10% |
| 阿葡糖苷酶α | 4 | 150 | + | > 90% | < 10% |
| ATB200 | 5 | 188 | 大多數纖維的尺寸大幅減小 | 40-64%* | 36-60% |

*這包括自噬積聚程度不同的纖維。總體而言，與媒劑或阿葡糖苷酶α治療組相比，ATB200治療組的積聚程度更小。

【0356】在圖78所示的另一項研究中，與用阿葡糖苷酶α（20 mg/kg）治療的小鼠相比，對Gaa KO小鼠進行12次兩週一次的ATB200（20 mg/kg）推注給藥顯示出肌肉纖維大小的顯著改善，這可從四肢的組織切片中定量。與龐貝氏病患者一樣，Gaa小鼠由於肌肉萎縮而顯示肌肉纖維尺寸減少。經ATB200治療的小鼠與經阿葡糖苷酶α治療的小鼠相比，平均最小Feret直徑明顯更大，這表明功效存在明顯的功能差異。

【0357】總體而言，數據表明，具有較高M6P含量的ATB200，無論是單獨使用還是在血液中性pH下藉由酶穩定劑麥格司他進一步穩定，當投與於*Gaa* KO小鼠時，與阿葡糖苷酶α相比，在組織靶向和溶酶體轉運方面更有效，這與

圖18中描繪的麥格司他對ATB200的穩定作用一致。因此，ATB200的投與和ATB200/麥格司他的共同投與比阿葡糖苷酶α更有效地糾正了一些與疾病相關的病理，例如肝醣累積、溶酶體增殖和自噬區的形成。由於該等積極的治療效果，ATB200的投與和ATB200/麥格司他的共同投與顯示出提高肌纖維從損傷中恢復的機會，甚至藉由清除由於缺乏最佳GAA活性而在細胞中積累的肝醣來逆轉損傷。與實例6一樣，該等數據也與在人龐貝氏病患者中證實的細胞水平的改善相一致，該改善導致在投與ATB200和麥格司他後龐貝氏病的有效治療和疾病進展的逆轉。人龐貝氏病患者的臨床數據總結於下文的實例8和9中。

**實例8：ATB200-02試驗**

【0358】 進行了一項1/2期（ATB200-02，NCT-02675465）開放標籤、固定順序、遞增劑量臨床研究，以評估患有龐貝氏病的成人受試者中IV輸注ATB200和麥格司他的安全性、耐受性、藥物動力學、藥效學和中期功效。數據在國際公開案號WO 2020/163480（其揭露內容藉由引用併入本文）中報告。

**實例9：ATB200-03試驗：ATB200/麥格司他在龐貝氏病患者中的3期人體研究**

【0359】 ATB200-03試驗係一項針對患有遲發性龐貝氏病（LOPD）的成人受試者中ATB200/麥格司他與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比的3期雙盲、隨機、多中心、國際研究，該成人受試者曾接受過阿葡糖苷酶α酶替代療法（即，經歷過ERT）或從未接受過ERT（即，ERT初治）。

**研究設計**

【0360】 如圖21所示，試驗包括長達30天的篩選期、12個月的治療期和30天的安全跟蹤期。符合條件的受試者以2:1的比例隨機分配接受ATB200/麥格司他或阿葡糖苷酶α/安慰劑，並按ERT狀態（經歷過ERT、ERT初治）和基線6分鐘步行距離（6MWD）（75至< 150米，150至<400米，≥400米）進行分層。

【0361】 功效評估（即功能評估）包括動態功能評估（6MWT）、運動功

能測試（步態、樓梯、高爾斯和椅子動作（GSGC）測試和計時起立行走（TUG）測試）、肌肉力量（徒手肌力測試和定量肌肉測試）和肺功能測試（FVC、SVC、MIP、MEP和SNIP）。記錄了患者報告結果（拉施（Rasch）建立的龐貝氏-比活性（R Pact）量表、EuroQol 5維度5水平儀器（EQ-5D-5L）、針對身體功能、疲勞、呼吸困難和上肢的患者報告結果測量資訊系統（PROMIS®）儀器，以及受試者對變化的總體印象）。還進行了醫師對變化的總體印象。

【0362】 藥效學評估包括測量肌肉損傷的生物標誌物（肌酸激酶（CK）和疾病底物（尿己糖四糖（Hex4））。收集稀疏血液樣本用於確定血漿中的總GAA蛋白水平和麥格司他濃度，用於ERT經驗受試者中的群體PK分析。在ERT初治受試者中進行系列血液採樣以表徵總GAA蛋白和麥格司他的PK譜。

【0363】 安全性評估包括監測不良事件（AE），包括輸注相關反應（IAR）、臨床實驗室測試（化學、血液學和尿液分析）、生命徵象、包括體重在內的身體檢查、心電圖（ECG）和免疫原性。還記錄了合併用藥和非藥物治療。

**受試者選擇**

【0364】 參與研究的受試者符合以下所有納入標準，但不符合任何排除標準。總共有122名受試者參加了ATB200-03試驗。其中，85名受試者（經歷過ERT的：65名；ERT初治的：20名）接受了ATB200/麥格司他治療，37名受試者（經歷過ERT的：30名；ERT初治的：7名）接受阿葡糖苷酶α/安慰劑治療。如圖22所示，基線6MWD和FVC數據具有群體代表性，並且在兩個治療組中總體相似。

【0365】 納入標準：

1. 在執行任何與研究相關的程序之前，受試者提供了簽署的知情同意書。

2. 篩選時男性和女性受試者年齡≥ 18歲且體重≥ 40 kg。

3. 有生育能力的女性受試者和男性受試者同意在研究期間和最後一劑研究藥物後的90天內使用醫學上可接受的避孕方法。

4. 受試者根據以下其中一項文檔被診斷為LOPD：

a. GAA酶缺乏症

b. *GAA*基因分型

5. 受試者被歸類為以下ERT狀態之一：

a. 經歷過ERT，定義為已接受推薦劑量和方案（即每2週20 mg/kg劑量）的標準護理ERT（阿葡糖苷酶α）≥ 24個月

• 特定於澳大利亞，經歷過ERT，定義為已接受標準ERT（阿葡糖苷酶α）推薦劑量和方案，每2週一次20 mg/kg（基於瘦體重或理想體重）

b. ERT初治，定義為從未接受過研究性或商購ERT

6. 受試者在篩選時的坐姿FVC ≥健康成人預測值的30%（國家健康和營養檢查調查III）。

7. 受試者在篩選時進行了兩次有效的6MWT，由臨床評估員確定，並且符合以下所有標準：

a. 6MWD的兩個篩選值都≥ 75米

b. 6MWD的兩個篩選值都 ≤ 健康成人預測值的90%

c. 6MWD的下限值在6MWD的上限值的20%以內

【0366】 排除標準：

1. 受試者在療法或治療的30天或5個半衰期內（以較長者為准）在第1天之前或預期在研究期間接受過除阿葡糖苷酶α之外的任何針對龐貝氏病的研究性療法或藥物治療。

2. 受試者接受過龐貝氏病的基因療法。

3. 受試者在第1天之前的30天內使用了以下任何違禁藥物：

• 米格列醇

• 麥格司他

- 阿卡波糖
- 伏格列波糖

4. 受試者需要在清醒時每天使用有創或無創通氣支持> 6小時。

5. 受試者對ATB200、阿葡糖苷酶α或麥格司他中的任何賦形劑過敏。

6. 受試者有醫療狀況或任何其他情有可原的情況，在調查員或醫療監督員看來，對受試者造成不當的安全風險或損害他/她遵守或不利影響方案要求的能力。這包括症狀不受控制或控制不佳的臨床抑鬱症（由精神病醫生或其他心理健康專家診斷）。

7. 受試者，如果係女性，則在篩選時懷孕或哺乳。

8. 受試者，無論是男性還是女性，都計畫在研究期間懷孕。

9. 受試者拒絕接受基因檢測。

**研究產品、劑量和投與方式**

【0367】 受試者以至少2：1的隨機化比例被隨機分配接受ATB200/麥格司他或阿葡糖苷酶α/安慰劑。下表13總結了入組受試者的治療。

**[表13].治療指定和方案**

| 治療指定 | 治療 | 方案 |
|---|---|---|
| ATB200/麥格司他 | 麥格司他[a] | 受試者 ≥ 50 kg：每2週ATB200輸注前1小時260 mg（4 × 65 mg口服膠囊）<br>受試者 ≥ 40 kg至 < 50 kg：每2週ATB200輸注前1小時195 mg（3 × 65 mg口服膠囊） |
| | ATB200 | 每2週20 mg/kg IV輸注4小時 |
| 阿葡糖苷酶α/安慰劑 | 安慰劑 | 受試者 ≥ 50 kg：安慰劑（4粒口服膠囊），每2週輸注一次阿葡糖苷酶α前1小時<br>受試者 ≥ 40 kg至 < 50 kg：安慰劑（3粒口服膠囊），每2週輸注一次阿葡糖苷酶α前1小時 |
| | 阿葡糖苷酶α | 每2週20 mg/kg IV輸注4小時 |

縮寫：IV = 靜脈內

[a]注：要求受試者在投與麥格司他或安慰劑前至少2小時禁食和投與安慰劑後2小時禁食。

**數據評估和統計考慮**

【0368】 主要功效終點係6MWD從基線到第52週的變化。主要終點測試了ATB200/麥格司他相對於阿葡糖苷酶α/安慰劑的優越性，使用重複測量的混合效應模型（MMRM）和預先指定的非參數測試以防違反正態性。

【0369】 按照預先指定的重要性等級順序排列的關鍵次要功效終點如下。該等次要終點使用協方差分析（ANCOVA）模型與末次觀察推進法（ITT LOCF）進行分析。

- 坐姿FVC從基線到第52週的變化（%預測）
- 下肢徒手肌力測試得分從基線到第52週的變化
- PROMIS總得分從基線到第52週的變化-身體功能
- PROMIS總得分從基線到第52週的變化-疲勞
- GSGC總得分從基線到第52週的變化

【0370】 其他次要功效終點如下：

- 以下與運動功能相關的變數從基線到第52週的變化：
  - 完成GSGC測試的10米步行（即步態評估）的時間
  - 完成GSGC測試爬4級樓梯的時間
  - 完成GSGC測試高爾斯動作的時間
  - 作為GSGC測試的一部分，從椅子上站起來的時間
  - 完成TUG測試的時間
- 以下與肌肉力量相關的變數從基線到第52週的變化：
  - 上肢徒手肌力測試得分
  - 徒手肌力測試總得分

- 上肢肌肉定量測試值（kg）
- 下肢定量肌肉測試值（kg）
- 定量肌肉測試總值（kg）

• 患者報告的結果測量的以下變數從基線到第52週的變化：

- PROMIS總得分-呼吸困難
- PROMIS總得分-上肢
- R-PAct量表總得分
- EQ-5D-5L健康狀況

• 受試者在第52週時與研究藥物在以下生活領域的影響相關的功能狀態（改善、穩定或下降）的實際值，如藉由受試者對變化的總體印象來衡量

- 總體身體健康
- 呼吸的力度
- 肌肉力量
- 肌肉功能
- 四處走動的能力
- 日常生活活動
- 能量水平
- 肌肉疼痛程度

• 受試者在第52週的功能狀態（改善、穩定或下降）的實際值，如藉由醫生對變化的總體印象來衡量

• 以下肺功能測量值從基線到第52週的變化，如下：

- 坐姿FVC（%預測）
- MIP（cmH2O）
- MIP（%預測）

- MEP（cmH2O）
- MEP（%預測）
- SNIP（cmH2O）

【0371】 藥效學終點如下：

- 血清CK水平從基線到第52週的變化
- 尿Hex4水平從基線到第52週的變化

【0372】 對於經歷過ERT的受試者，收集了來自總GAA蛋白水平和麥格司他濃度的群體PK分析的藥物動力學終點。對於ERT初治受試者，計算了血漿總GAA蛋白濃度和麥格司他的PK參數。

【0373】 ATB200/麥格司他的安全性譜使用以下進行表徵：治療中出現的不良事件（TEAE）、嚴重不良事件（SAE）和導致研究藥物停用的AE、立即和晚期IAR的頻率和嚴重程度以及其他安全性評估中發現的任何異常。還評估了ATB200和阿葡糖苷酶α的免疫原性對安全性和功效的影響。

【0374】 統計方法包括以下關於樣本隨機化、樣本量計算、功效分析和安全性分析的考慮。

【0375】 隨機化。以下兩個因素被確定為設計分層變數：1.基線6MWD（75至 < 150米，150至 < 400米，≥ 400米）；和2.ERT狀態（經歷過ERT，ERT初治）。這兩個因素形成了六個因子組合（即水平、層次）。使用集中的區組隨機化程序來平衡上述風險因素，1) 減少偏差並提高統計推斷的精度，以及2) 允許進行各種計畫內和計畫外的子集分析。對6個層次中的每個層次執行區組隨機化方案。隨機化比率為2 : 1 ATB200/麥格司他比阿葡糖苷酶α/安慰劑，固定。

【0376】 樣本量計算。2側顯著性水平為0.05和2：1隨機化方案的2組t檢驗（ATB200/麥格司他組中有66名受試者，阿葡糖苷酶α/安慰劑組中有33名受試者，總樣本量為99名受試者）被確定為具有大約90%的功效，以在優勢檢驗中檢

測兩組間0.7的標準化效應量。該計算係使用Nquery 8©®執行的。假設退出率為10%，則樣本量約為110名受試者。

【0377】 功效分析。使用協方差參數分析（ANCOVA）模型分析主要功效終點（即6MWD從基線到第52週的變化），以比較新治療和對照。該模型通常會針對基線6MWD（作為連續協變數）和用於對隨機化進行分層的2個因素進行調整：ERT狀態（ERT初治與經歷過ERT）和基線6MWD（75至 < 150米，150至 < 400米，≥ 400米）。然而，由於它們之間預期的高點雙序列相關性，基線6MWD不能在模型中使用兩次（作為連續變數和分類變數）。因此，6MWD連續變數保留在模型中，但刪除了分類6MWD。然後，ANCOVA模型具有以下項：治療、基線6MWD（連續）和ERT狀態（分類）。

【0378】 此外，檢查了潛在的治療協變數相互作用（即，ERT狀態下的治療和基線6MWD連續治療）。如果相互作用項具有統計顯著性（例如，$p < 0.10$，2邊），並且存在合乎邏輯的生物學解釋，則相互作用項可能會添加到最終的ANCOVA模型中，用於主要終點分析。然後根據ANCOVA模型和所有相關估計（例如，每個治療組的LS均值、LS均值差、LS均值差的95%置信區間（CI））對數據進行分析並且提供兩個治療組之間比較的p值。

【0379】 為了支持對臨床獲益的解釋，根據治療結果數據的整體定義了複合受試者水平反應。根據治療結果，根據由顯著改善、中等改善或輕微/無改善組成的有序反應變數對受試者進行分類。

【0380】 關鍵次要終點按照層級順序進行分析，採用逐步封閉測試程序控制 I 類錯誤率。使用與主要終點分析類似之方法分別分析關鍵的次要終點和其他次要終點。

【0381】 安全性分析。使用分類數據的計數和百分比和連續數據的描述性統計（平均值、標準差、中值、最小值、最大值）總結安全性數據。

**ATB200-03試驗的功效結果**

【0382】 在總體群體中，第52週相對於基線（圖23A）和隨時間的推移（圖23B），ATB200/麥格司他治療顯示出6MWD的改善和預測FVC百分比的穩定。與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比，ATB200/麥格司他治療顯示第52週時總體群體的6MWD有更大改善（圖23A）。此外，如圖23A所示，與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比，ATB200/麥格司他治療顯示在第52週時總體群體中預測FVC百分比有臨床顯著改善。

【0383】 在經歷過ERT的群體中，第52週相對於基線（圖24），ATB200/麥格司他治療顯示出6MWD的改善和預測FVC百分比的穩定。與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比，在經歷過ERT的群體中ATB200/麥格司他治療顯示6MWD隨著時間的推移得到改善，並且預測FVC百分比隨著時間的推移而穩定（圖25）。此外，如圖24所示，與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比，在經歷過ERT的群體中ATB200/麥格司他治療顯示在第52週時6MWD和預測FVC百分比均有臨床顯著改善。

【0384】 如圖26A和26B所示，在較小的ERT初治群體（n=27）中，第52週相對於基線（圖26A）和隨時間的推移（圖26B），ATB200/麥格司他治療顯示出6MWD的改善和預測FVC百分比的穩定。兩個治療組之間的差異更大，並且在6MWD或預測FVC百分比方面未觀察到臨床顯著改善（圖26A）。

【0385】 如圖28所示，在經歷過ERT的總體群體中，與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比，下肢MMT在數值上有利於ATB200/麥格司他治療。

【0386】 從基線到第52週，下肢MMT得分的平均變化（SD）顯示，與接受阿葡糖苷酶α和安慰劑治療的受試者的改善數值0.9（2.58）相比，共同投與西帕葡糖苷酶α和麥格司他的受試者數值改善了1.6（3.78）（p = 0.191）。

【0387】 如圖29所示，在總體群體和經歷過ERT的群體中，與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比，ATB200/麥格司他治療顯示GSGC在第52週有臨床顯著改善。

【0388】 總GSGC得分從基線到第52週的平均變化顯示，與接受阿葡糖苷酶α和安慰劑治療的受試者的改善0.77（1.8）相比，共同投與西帕葡糖苷酶α和麥格司他的受試者改善了-0.53（2.5）（p = 0.009）。

【0389】 如圖30所示，在總體群體和經歷過ERT的群體中，與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比，PROMIS身體功能在數值上有利於ATB200/麥格司他治療。

【0390】 如圖31所示，在總體群體和經歷過ERT的群體中，兩個治療組之間的PROMIS疲勞改善相似。

【0391】 ATB200-03試驗的生物標誌物結果

【0392】 在總體群體和經歷過ERT的群體中，ATB200/麥格司他治療顯示肌肉損傷（CK）和疾病底物（Hex4）的生物標誌物隨時間推移有所改善（圖32和33）。此外，如圖32和33所示，在總體群體和經歷過ERT的群體中，與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比，在第52週時，用ATB200/麥格司他治療的CK和尿Hex4的降低顯著更大。

【0393】 在經歷過ERT的患者中，ATB200/麥格司他治療和阿葡糖苷酶α安慰劑治療的基線平均尿Glc4濃度分別為4.6 mmol/mol和7.2 mmol/mol。在第52週，ATB200/麥格司他治療組和阿葡糖苷酶α安慰劑治療組的平均尿Glc4濃度分別為2.9 mmol/mol和9.1 mmol/mol。

【0394】 如圖34中總結的那樣，在總體群體和經歷過ERT的群體中，運動功能、肺功能、肌肉力量、患者報告結果（PRO）和生物標誌物的終點始終支持ATB200/麥格司他治療優於阿葡糖苷酶α/安慰劑。此外，在評估的17項功效和生物標誌物終點中，有16項支持ATB200/麥格司他治療優於阿葡糖苷酶α/安慰劑。

【0395】 ATB200-03試驗的安全性結果

【0396】 如圖35所示，ATB200/麥格司他治療組的總體安全性與阿葡糖苷

酶α/安慰劑組相似。

【0397】 圖36 - 圖40描述了ATB200-03試驗的其他方面。

**實例10：PROPEL 3期臨床試驗結果**

【0398】 與關鍵的3期PROPEL研究中的標準護理相比，AT-GAA在遲發性龐貝氏病的肌肉骨骼和呼吸測量方面顯示出具有臨床意義和顯著的改善。PROPEL也稱為「ATB200-03」，參見實例9。

【0399】 從批准的標準護理ERT（阿葡糖苷酶α）轉換為AT-GAA的患者平均多走17米（p = 0.046）。

【0400】 轉換為AT-GAA的患者的預測用力肺活量（FVC）百分比也有所改善，FVC係龐貝氏病呼吸功能最重要的量度，相比之下，接受阿葡糖苷酶α治療的患者則出現衰退（FVC Diff. 4.1%；p = 0.006）。

【0401】 與接受阿葡糖苷酶α治療的患者相比，AT-GAA在FVC的第一個關鍵次要終點方面顯示出名義上具有統計學顯著性和臨床意義的優勢差異（FVC Diff. 3.0%；p = 0.023）。

【0402】 在ERT轉換和ERT初治患者的聯合研究群體中，AT-GAA在主要終點上比阿葡糖苷酶α高出14米（21米比7米），並且在優勢上沒有統計學顯著（p = 0.072）。

【0403】 與阿葡糖苷酶α相比，合併研究群體中龐貝氏病的兩個重要生物標誌物（Hex-4和CK）的改善顯著有利於AT-GAA（p < 0.001）。

【0404】 PROPEL係一項為期52週的雙盲隨機全球研究，旨在評估AT-GAA與當前標準護理阿葡糖苷酶α（一種酶替代療法（ERT））相比的功效、安全性和耐受性。該研究招募了123名成年龐貝氏病患者，他們在沒有機械通氣的情況下仍然能夠行走和呼吸，並在5大洲24個國家的62個臨床網站進行。這係有史以來針對溶酶體障礙進行的最大規模的對照臨床研究。

【0405】參加PROPEL的患者按2:1隨機分配，因此每兩名隨機接受AT-GAA治療的患者，就有一名隨機接受阿葡糖苷酶α治療。在參加PROPEL的龐貝氏病患者中，77%的患者在參加前即刻接受了阿葡糖苷酶α（n = 95）治療，23%的患者從未接受過任何ERT治療（n = 28）。117名患者完成了PROPEL研究，所有117名患者都自願參加了長期擴展研究，並且現在僅接受AT-GAA治療他們的龐貝氏病。

**合併的ERT轉換和ERT初治研究群體中的6分鐘步行距離（6MWD）和預測用力肺活量百分比（FVC）的預先指定分析：**

【0406】該研究的主要終點係合併的ERT轉換和ERT初治患者群體中52週時6分鐘步行距離的平均變化與基線測量值相比。在該合併群體中，使用AT-GAA的患者（n = 85）在52週時平均多走21米，而接受阿葡糖苷酶α治療的患者（n = 37）平均多走7米（表14）。合併群體中的這個主要終點被評估為優勢，雖然數值更大，但與阿葡糖苷酶α組相比，AT-GAA組在該合併群體中的優勢沒有達到統計顯著性（p = 0.072）。

【0407】根據統計分析計畫的層次結構，該研究的第一個關鍵次要終點係合併群體在52週時預測FVC百分比的平均變化。在這個合併群體中，使用AT-GAA的患者與接受阿葡糖苷酶α治療的患者相比，表現出名義上具有統計學顯著性和臨床意義的優勢差異。52週後，AT-GAA顯著減緩了患者呼吸衰退的速度。用AT-GAA治療的患者顯示預測FVC百分比絕對衰退0.9%，而阿葡糖苷酶α組的絕對衰退為4.0%（p = 0.023）（表15）。預測的FVC百分比係龐貝氏病中呼吸肌功能最重要的衡量指標，也是阿葡糖苷酶α獲批的基礎。

**[表14].總體ERT轉換和ERT初治研究群體中的6MWD（m）**

| 治療 | 基線 | 第52週的CFBL | 差異 | 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].總體ERT轉換和ERT初治研究群體中的FVC（%預測）**

| 治療 | 基線 | 第52週的CFBL | 差異 | 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轉換研究群體（n = 95）中的6分鐘步行距離（6MWD）和預測用力肺活量百分比（FVC）的預先指定分析：**

【0408】 PROPEL轉換患者進入研究時已經接受了至少兩年的阿葡糖苷酶α治療。在進入PROPEL研究之前，超過三分之二（67%+）的患者已經接受ERT治療超過五年（平均7.4年）。

【0409】 對自阿葡糖苷酶α轉換的患者進行的6分鐘步行距離預設分析表明，在轉換後52週，AT-GAA治療的患者（n = 65）的步行距離比基線遠16.9米，相比之下，那些被隨機分配繼續使用阿葡糖苷酶α的患者（n = 30）為0.0米（p = 0.046）（表16）。

【0410】 對自阿葡糖苷酶α轉換的患者進行的預測FVC百分比預設分析表明，AT-GAA治療的患者在這一重要量度上的呼吸功能趨於穩定並略有改善，而那些繼續使用阿葡糖苷酶α的患者呼吸肌功能繼續顯著衰退。AT-GAA患者顯示出預測FVC百分比的0.1%絕對增加，而阿葡糖苷酶α患者在這一年中顯示出4.0%的絕對衰退（p = 0.006）（表17）。

**[表16]. ERT轉換研究群體中的6MWD（米）**

| 治療 | 基線 | 第52週的CFBL | 差異 | 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轉換研究群體中的FVC（%預測）**

| 治療 | 基線 | 第52週的CFBL | 差異 | 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治療初治群體（n = 28）中的6分鐘步行距離（6MWD）和預測用力肺活量百分比（FVC）的預先指定分析：**

【0411】 對以前從未接受過任何ERT治療的患者的6分鐘步行距離的預先指定分析表明，在52週後，接受AT-GAA治療的患者（n = 20）比基線多走了33米。阿葡糖苷酶α治療的患者（n = 7）比他們的基線多走了38米。兩組之間的差異沒有統計學顯著性（p＝0.60）（表18）。

【0412】 對之前從未接受過任何ERT治療的患者進行的預設分析顯示，在52週時，預測用力肺活量（FVC）百分比出現類似地衰退，對於AT-GAA治療的患者為-4.1%，而對於阿葡糖苷酶α治療的患者為-3.6%（表19）。兩組之間的差異無統計學顯著性（p = 0.57）。

**[表18]. ERT初治群體中的6MWD（米）**

| 治療 | 基線 | 第52週的CFBL | 差異 | 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初治群體中的FVC（%預測）**

| 治療 | 基線 | 第52週的CFBL | 差異 | 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組的一名患者被排除在研究分析之外，因為使用了一種研究性合成代謝類固醇，影響了他的基線表現。

**總體ERT轉換和ERT初治研究群體的其他關鍵次要和生物標誌物終點的預先指定分析：**

**【0413】 肌肉骨骼和其他關鍵次要終點：**

**【0414】 GSGC（步態、樓梯、高爾斯）：**GSGC係龐貝氏病中一個重要

且常用的終點，用於捕捉力量、協調性和活動性。在總體群體中，在這一重要評估中，接受AT-GAA治療的患者在得分上表現出統計學上的顯著改善，相比之下，接受阿葡糖苷酶α治療的患者則有所惡化（$p < 0.05$）。

【0415】 **下肢MMT（徒手肌力測試），PROMIS身體功能：**在這兩種經過驗證的肌肉力量測量和患者報告的結果中，AT-GAA治療的患者在數值上比阿葡糖苷酶α治療的患者改善更多，儘管結果沒有統計學顯著性。

【0416】 **PROMIS疲勞：**藉由該量表測量的疲勞比阿葡糖苷酶α治療的患者略有利於AT-GAA治療的患者。

**疾病治療效果的生物標誌物：**

【0417】 **尿Hex-4：**對於ERT轉換患者和ERT初治患者的組合研究群體，那些接受AT-GAA的患者在該生物標誌物方面表現出顯著改善，52週後Hex-4平均減少-31.5%，相比之下，阿葡糖苷酶α治療的患者的Hex-4增加了+11.0%（即，惡化）（$p = < 0.001$）。尿Hex-4係龐貝氏病的常見生物標誌物，可用作接受ERT的龐貝氏病患者骨骼肝醣清除程度的間接量度。肝醣係在龐貝氏病患者肌肉溶酶體中積累的底物。

【0418】 **CK（肌酸激酶）：**52週後，接受AT-GAA治療的患者在該生物標誌物方面也有顯著改善，-22.4%的CK平均降低，相比之下，接受阿葡糖苷酶α治療的患者則+15.6%的增加（即惡化）。（$p < 0.001$）。CK係一種酶，會從受損的肌肉細胞中滲漏出來，並在龐貝氏病患者中升高。

【0419】 AT-GAA顯示出與阿葡糖苷酶α相似的安全性譜。接受AT-GAA治療的兩名患者（2.4%）因不良事件而停止治療，相比之下接受阿葡糖苷酶α治療的一名患者（2.6%）停止治療，與治療無關。25%的AT-GAA參與者和26%的阿葡糖苷酶α患者報告了注射相關反應（IAR）。

**事後亞組分析：**

【0420】**基線6MWD和FVC類別**：ERT初治群體（n = 27）：三名患者的基線6MWD < 300 m，三名患者的基線FVC < 55%；由於患者數量較少，因此未在該等亞組中進行CFBL分析。基線6MWD ≥ 300米：隨著時間的推移，西帕葡糖苷酶α/麥格司他（AT-GAA）組（n = 18）和阿葡糖苷酶α/安慰劑組（n = 6）組都有類似的改善（到第52週的平均[SE] CFBL分別為：+34.4 [12.1] m和+30.8 [9.6] m）。基線FVC ≥55%：西帕葡糖苷酶α/麥格司他（n = 19）和阿葡糖苷酶α/安慰劑（n = 5）組均隨時間衰退（平均[SE] CFBL至第52週：分別為-3.7 [1.5] %和-3.3 [2.6] %）。如圖41所示，在基線6MWD < 300 m和≥ 300 m，FVC < 55%和≥ 55%的患者中，總體群體和經歷過ERT的群體的結果始終有利於西帕葡糖苷酶α/麥格司他。

【0421】在包括ERT初治患者和經歷過ERT的患者在內的總體研究群體中，與批准的ERT相比，西帕葡糖苷酶α/麥格司他在運動和呼吸功能方面表現出積極趨勢或有臨床意義的改善，無論基線6MWD和% FVC評估如何，並且在預設亞組分析和事後亞組分析中均如此表現。

【0422】西帕葡糖苷酶α/麥格司他表現出與阿葡糖苷酶α/安慰劑相似的安全性譜（圖42）。

**關於AT-GAA**

【0423】AT-GAA係一種研究性雙組分療法，由西帕葡糖苷酶α（ATB200）組成，該西帕葡糖苷酶α係一種獨特的重組人酸性α-葡糖苷酶（rhGAA）酶，具有優化的碳水化合物結構，特別是雙磷酸化甘露糖-6磷酸（雙-M6P）聚糖，用於增強細胞的攝取，其與麥格司他（AT2221）聯合投與，該麥格司他係西帕葡糖苷酶α的穩定劑。在臨床前研究中，AT-GAA與成熟溶酶體形式GAA水平的升高和肌肉中肝醣水平的降低、自噬缺陷的緩解和肌肉力量的改善有關。

**關於龐貝氏病**

【0424】 龐貝氏病係一種由酸性α-葡糖苷酶（GAA）缺乏引起的遺傳性溶酶體障礙。GAA水平的降低或缺失導致細胞中肝醣的積累，據信這會導致龐貝氏病的臨床表現。這種疾病可能會使人衰弱，其特徵係嚴重的肌肉無力會隨著時間的推移而惡化。龐貝氏病的範圍從對心臟功能有重大影響的迅速致命的嬰兒形式到主要影響骨骼肌的更緩慢進展的遲發形式。據估計，龐貝氏病影響全球約5,000至10,000人。

**實例11：開放標籤I/II期研究（ATB200-02）的結果**

【0425】 ATB200-02（NCT02675465）係一項開放標籤、I/II期臨床試驗，其旨在評估西帕葡糖苷酶α/麥格司他在成人龐貝氏病患者中的安全性、耐受性、藥物動力學、藥效學和功效。西帕葡糖苷酶α/麥格司他係一種研究性雙組分療法，用於治療遲發性龐貝氏病（LOPD），包括靜脈注射西帕葡糖苷酶α（rhGAA）和口服麥格司他（酶穩定劑）。

【0426】 圖43顯示了I/II期ATB200-02研究的研究設計。該研究在5個國家/地區的16個中心進行。ATB200-02研究納入了四組龐貝氏病患者：

- 佇列1：經歷過ERT，年齡在18-65歲，有2-6年的先前ERT，每2週使用20 mg/kg阿葡糖苷酶α（n = 11）
- 佇列2：不能行走，經歷過ERT，年齡在18-65歲，有≥2年的先前ERT，每2週使用20 mg/kg阿葡糖苷酶α（n = 6）
- 佇列3：ERT初治，年齡在18-65歲（n = 6）
- 佇列4：經歷過ERT，年齡在18-75歲，有≥7年的先前ERT，每2週使用20 mg/kg阿葡糖苷酶α（n = 6）

【0427】 符合條件的能行走患者的6分鐘步行距離（6MWD）至少為200米（佇列1和佇列3）或75米（佇列4），直立用力肺活量（FVC）為預計正常值的30-80%。

【0428】 定期評估6MWD、預測坐姿FVC %、徒手肌力測試（MMT）和生物標誌物—尿葡萄糖四糖（Hex4）和血清肌酸激酶（CK）相對於基線（CFBL）的變化。本文提供了對經歷過ERT的患者和ERT初治患者長達36個月的跟蹤數據。圖44顯示了報告的終點和佇列的總結。圖45顯示基線特徵和患者處置。由於患者入組的時間錯開，在這項正在進行的研究中，當前可用數據的患者數量會在稍後的時間點減少。

【0429】 經歷過ERT的患者在6MWD中表現出從基線到48個月的持久平均改善。在12個月、24個月、36個月和48個月的跟蹤之後，分別有13/16、9/13、6/12和6/9的經歷過ERT的患者的6MWD從基線數值上有所改善（圖46A）。到第12個月平均增加33米（m），到第24個月增加25 m，到第36個月增加9 m，到第48個月增加20 m。

【0430】 對於經歷過ERT的患者，FVC相對於基線的變化（CFBL）通常在長達48個月的跟蹤中保持穩定。12、24、36和48個月的跟蹤之後，分別在9/16、11/13、8/10和4/6名患者（圖47A）中FVC相對於基線水平改善（> 3%）或保持穩定（±3%）。到第12個月的平均變化為-1.2%，到第24個月為+1.0%，到第36個月為-0.3%，到第48個月為+1.0%。

【0431】 在經歷過ERT的患者中，MMT下肢得分相對於基線的平均變化在數值上有所改善，並且改善維持長達48個月的跟蹤（圖48A）。在12、24、36和48個月的跟蹤後，分別有14/15、11/13、10/10和8/8的能行走患者的MMT下肢得分相對於基線有所改善。到第12個月平均增加3.1分，到第24個月增加2.1分，到第36個月增加2.5分，到第48個月增加3.5分。

【0432】 ERT初治患者在6MWD中表現出從基線到48個月的持久平均改善。在12、24、36和48個月的跟蹤之後，分別有6/6、6/6、4/5和4/4的ERT初治患者的6MWD相對於基線數值上有所改善（圖46B）。到第12個月平均增加57

米，到第24個月增加54米，到第36個月增加43米，到第48個月增加52米。

【0433】 在ERT初治患者中，FVC中的平均CFBL在長達48個月的跟蹤中相對於基線有所改善。12、24、36和48個月的跟蹤之後，分別在5/6、6/6、5/5和4/4名患者（圖47B）中FVC相對於基線水平改善（>3%）或保持穩定（±3%）。如圖47B中的星號所示，ERT初治佇列中的一名患者在第21個月時預測FVC%大幅下降，在下次就診時（第24個月）恢復到之前的水平。到第12個月的平均變化為3.2%，到第24個月為4.7%，到第36個月為6.2%，到第48個月為8.3%。

【0434】 在ERT初治患者中，MMT下肢得分相對於基線的平均變化在數值上有所改善，並且改善維持長達48個月的跟蹤（圖48B）。在12、24、36和48個月的跟蹤後，分別有4/5、4/5、4/4和3/4的能行走患者的MMT下肢得分相對於基線有所改善。到第12個月平均增加2.8分，到第24個月增加3.0分，到第36個月增加3.3分，到第48個月增加1.0分。

【0435】 在48個月的跟蹤期間，西帕葡糖苷酶α/麥格司他通常與尿Hex4相對於基線的平均減少有關，在ERT初治患者中減少更多。在12、24、36和48個月的跟蹤後，Hex4水平分別在16/16、11/14、11/12和6/9的經歷過ERT的患者中以及5/6、5/6、4/5和4/5的ERT初治患者中在數值上相對於基線降低（圖49A）。

【0436】 在48個月的跟蹤期間，西帕葡糖苷酶α/麥格司他與血漿CK的穩定水平或基線平均降低相關，在ERT初治患者中降幅更大。在12、24、36和48個月的跟蹤後，CK水平分別在13/15、14/15、9/11和8/9的經歷過ERT的患者中以及在6/6、6/6、5/5和4/5的ERT初治患者中在數值上相對於基線降低（圖49B）。

【0437】 圖50顯示了ATB200-02研究中研究藥物首次給藥時或之後發生的治療中出現的不良事件（TEAE）的總結。佇列1（先前ERT 2-6年）、4（先前ERT≥7年）和3（ERT初治）中平均（SD）治療持續時間分別為37.2（14.48）、19.9（4.13）和36.9（12.14）個月。最常見的TEAE包括摔倒、鼻咽炎、關節痛、

頭痛和腹瀉；大多數TEAE的嚴重程度為輕度或中度，並且不會導致研究退出。

【0438】 來自ATB200-02研究的西帕葡糖苷酶α加麥格司他對能行走患者長達48個月的跟蹤結果表明如下。經歷過ERT的患者運動功能相對於基線有持久的平均改善，持續長達48個月的跟蹤，而呼吸功能在同一時期保持穩定：與許多接受長期ERT的患者的預期衰退相比有所改善。ERT初治患者在運動和呼吸功能方面表現出相對於基線的持久平均改善，持續長達48個月的跟蹤。兩種生物標誌物Hex4和CK的平均水平在長達48個月的跟蹤期間要麼保持穩定要麼相對於基線下降，其中下降幅度在ERT初治佇列中最為顯著。西帕葡糖苷酶α加麥格司他的安全性譜與阿葡糖苷酶α的安全性譜相似。

【0439】 圖55顯示了針對佇列2（不能行走的經歷過ERT的患者）報告的終點和佇列的總結。圖56顯示了佇列2的基線特徵和患者處置。

【0440】 對於該等不能行走的經歷過ERT的患者，FVC相對於基線的變化（CFBL）在數值上相對於基線改善和/或在長達48個月的跟蹤中保持穩定（圖57）。到第12個月的平均變化為+2.5%，到第24個月為+2.0 %，到第36個月為-2.0%，到第48個月為-1.0%。

【0441】 在該等不能行走的經歷過ERT的患者中，MMT總得分（上半身）的平均變化相對於基線在數值上有所改善和/或在長達36個月的跟蹤中保持穩定（圖57）。到第12個月的平均變化為+1.3分，到第24個月為+2.0分，到第36個月為-0.8分。

【0442】 在該等不能行走的ERT經歷患者的48個月跟蹤期間，西帕葡糖苷酶α/麥格司他通常與尿Hex4和血漿CK相對於基線的平均降低有關（圖57）。在12、24、36和48個月的跟蹤後，Hex4水平相對於基線在數值上下降，平均下降分別為-15.6%、-34.1%、-36.5%和-4.0%。在12、24、36和48個月的跟蹤後，血漿CK水平相對於基線在數值上下降，平均下降分別為-20.8%、-25.3%、-27.%和

-23.7%。

【0443】 圖58顯示了ATB200-02研究中研究藥物首次給藥時或之後或佇列2（在不能行走的經歷過ERT的患者中）發生的治療中出現的不良事件（TEAE）的總結。平均（SD）治療持續時間為46.3（22.86）個月。最常見的TEAE包括鼻咽炎和腹瀉（均發生在3名患者中）；大多數TEAE的嚴重程度為輕度或中度，並且不會導致研究退出。

【0444】 來自ATB200-02研究的西帕葡糖苷酶α加麥格司他對不能行走的經歷過ERT的患者長達48個月的跟蹤結果表明如下：該等患者的運動功能和肺功能相對於基線有持久的平均改善和/或穩定，持續長達48個月的跟蹤：與許多接受長期ERT的患者的預期衰退相比有所改善。兩種生物標誌物Hex4和CK的平均水平在長達48個月的跟蹤期間要麼保持穩定要麼相對於基線下降。西帕葡糖苷酶α加麥格司他在該患者組中總體耐受性良好。

**實例12：ERT對龐貝氏病患者的長期影響**

【0445】 圖51顯示了西帕葡糖苷酶α/麥格司他和艾夫糖苷酶α對經歷過ERT的受試者中6MWD和預測FVC（坐姿）百分比相對於基線的變化的長期影響的比較。圖52顯示了西帕葡糖苷酶α/麥格司他和艾夫糖苷酶α對ERT初治受試者中6MWD和預測FVC（坐姿）百分比相對於基線的變化的長期影響的比較。比較顯示，根據6MWD評估，從阿葡糖苷酶α轉換為艾夫糖苷酶α的經歷過ERT的患者繼續經歷運動功能進行性喪失，這與上文顯示的繼續長期使用阿葡糖苷酶α的患者的進展類似，而從阿葡糖苷酶α轉換為西帕葡糖苷酶α/麥格司他的患者經歷了分類變化，根據6MWD評估，顯示出運動功能逐漸增強。在FVC方面也觀察到類似的趨勢，根據FVC評估，轉換為艾夫糖苷酶α的患者經歷肺功能進行性喪失，而根據FVC評估，從阿葡糖苷酶α轉換為西帕葡糖苷酶α/麥格司他的患者的肺功能穩定。

【0446】 圖53A - 圖53B顯示在用阿葡糖苷酶α治療期間預測的6分鐘步行測試（6MWT）百分比。圖53B顯示了從圖53A僅從第2年開始重新繪製的數據。圖54顯示在用阿葡糖苷酶α治療期間預測的FVC百分比。從第2年開始的數據顯示，經歷過ERT的患者繼續使用阿葡糖苷酶α的情況預計會有所衰退。

**實例13：阿葡糖苷酶α（Alglu）、艾夫糖苷酶α（Aval）和西帕葡糖苷酶α + 麥格司他（Cipa+mig）的比較**

【0447】 在沒有比較Aval和Cipa+mig的頭對頭試驗的情況下，間接治療比較（ITC）係更好地瞭解LOPD三種治療的臨床差異的合適方法。衛生技術評估機構（HTA）廣泛要求ITC支持比較性衛生經濟評估。

【0448】 進行ITC，其提供目標群體（即LOPD群體，包括ERT初治受試者和經歷過ERT的受試者的混合體，如比較Cipa+mig與Alglu [PROPEL]的關鍵III期試驗）的相對效果估計。

【0449】 進行了系統的文獻綜述（SLR），以確定LOPD中ERT的相關已發表臨床研究。評估的結果係第52週時6分鐘步行距離（6MWD）（m）和用力肺活量（FVC；預測百分比）相對於基線的變化，臨床醫生、HTA機構和支付方將其視為關鍵的LOPD試驗終點。從納入的研究中提取了6MWD和FVC隨時間相對於基線的變化的匯總結果和基線特徵（年齡、性別、種族、先前ERT持續時間、基線6MWD和基線FVC）。

【0450】 進行了多級網路元回歸（ML-NMR），這係對標準網路元分析（NMA）的擴展，考慮了研究級協變數的影響，並且可應用於任何具有患者個體級數據（IPD）和總體數據混合物的連接網路。ML-NMR係國家健康和護理卓越研究所（National Institute for Health and Care Excellence，NICE）接受之方法，用於支持成本效益分析。單組研究結果與比較研究的適當比較組相匹配，以允許納入網路。計算第52週時6MWD和FVC相對於基線的變化的平均治療差異和

相關的95%置信區間（CrI）。

【0451】評估了基本情況情景，其中所有協變數都設置為PROPEL試驗的目標群體。為了研究先前ERT持續時間對相對效果的影響，ERT持續時間值發生變化，保持剩餘的協變數值與基本情況情景一樣。藉由從網路中排除所有匹配的單組證據來執行敏感性分析，以評估其對結果的影響。

【0452】應用固定效應（FE）和隨機效應（RE）ML-NMR模型，並使用偏差資訊標準（DIC）評估模型的擬合優度並確定對於數據的合適模型（FE或RE模型）。在R包multinma的幫助下，使用Stan在貝葉斯框架中執行模型。

【0453】SLR確定了七項臨床研究，其基線特徵如圖59所示。該等研究包括但不限於三項隨機臨床試驗（LOTS：Alglu與安慰劑；COMET：Aval相比於Alglu；PROPEL：Cipa+mig相比於Alglu）。每個共用6MWD和FVC作為關鍵主要或次要終點（參見圖60和61）但他們的試驗群體不同（PROPEL係唯一的隨機對照試驗[RCT]，其中包括ERT初治受試者和經歷過ERT的受試者）。納入研究的功效結果如圖60所示。

【0454】對於兩個終點，網路係相同的，如圖61所示。來自單組研究的證據LOTS OLE、NEO-1/-EXT、COMET OLE和ATB200-02已包含在網路中，如藍色框所示，藉由將單組結果與頭對頭試驗的相應比較結果進行匹配。

【0455】在基本情況情景下，協變數設置為目標群體的基線特徵（即PROPEL試驗；見表20），時間設置為52週。

**[表20]：基本情況情景協變數設置**

| 年齡（歲） | %男性 | %白種人 | ERT持續時間（年） | 6MWD（米） | FVC（%預測） |
|---|---|---|---|---|---|
| 46.95 | 45.08 | 84.43 | 5.744 | 355.8 | 70.42 |

【0456】基於DIC，為6MWD選擇了RE模型，為FVC選擇了FE模型。對於

兩個終點（圖62和63）：Cipa+mig與Alglu和Aval相比顯示出統計學上顯著的有利效果；而Cipa+mig與安慰劑相比顯示出數值上有利的效果。

【0457】 請注意，相比於安慰劑的相對效果估計的95% CrI通常比相比於Alglu或相比於Aval的相對效果估計的95% CrI寬得多。這反映了該等估計值的較大不確定性，因為安慰劑數據僅適用於ERT初治受試者，並且之前的基本情況情景的ERT持續時間相對較長（5.7年）。

【0458】 圖64（6MWD）和圖65（FVC）中顯示了不同先前ERT持續時間（先前ERT持續時間 = 0年[即初治患者]、2.5年、5年和9.2年）的相對效果估計。

【0459】 基於DIC，為6MWD和FVC選擇了RE模型。圖66和圖67概述了使用敏感性分析對基本情況情景的具有95% CrI的相對效果估計，並顯示：

- 將匹配的單組證據納入主要分析網路可減少相對效果估計的不確定性
- Cipa + mig：相比於Alglu在統計上有利；相比於Aval在數值上不利；相比於安慰劑在數值上有利（6MWT和FVC）
- Aval：相比於Alglu和安慰劑在數值上有利（6MWT和FVC）
- Alglu：相比於安慰劑在數值上有利

【0460】 總之，此處提供的ML-NMR比較表明，在主要分析的基本情況情景下，對於6MWD和FVC，Cipa+mig在統計學上顯著優於Alglu和Aval。對於不同ERT持續時間的6MWD和FVC，Cipa+mig在統計學上也顯著優於Alglu和Aval，但有一個例外：對於FVC，Cipa+mig在ERT初治設置中僅在數值上優於Aval。

【0461】 敏感性分析（僅包括RCT數據）表明，將匹配的單組證據納入主要分析網路可減少相對效果估計的不確定性。總體而言，該等結果表明Cipa+mig與其他ERT相比可能具有不同的臨床譜，特別是對於先前接受過某種程度ERT治療的個體。當更多的長期數據發佈時，預計將進行進一步的分析以測試和完

善調查結果。

**實例14：西帕葡糖苷酶α + 麥格司他（Cipa+mig）和阿葡糖苷酶α（Alglu）的長期比較**

【0462】上文實例9和實例10中描述的III期雙盲PROPEL研究（NCT03729362；ATB200-03）在遲發性龐貝氏病（LOPD）成人患者中經52週比較了研究性雙組分療法西帕葡糖苷酶α/麥格司他（cipa/mig）與阿葡糖苷酶α/安慰劑（alglu）。PROPEL（NCT04138277；ATB200-07）正在進行的開放標籤擴展（OLE）評估了cipa/mig的長期安全性和功效。結果包括6分鐘步行距離（6MWD）、用力肺活量（FVC）、肌酸激酶（CK）和己糖四糖（Hex4）水平和安全性。數據包告為從PROPEL基線到OLE第52週（PROPEL基線後104週）的變化。研究設計和患者處置如圖68所示並且和基線特徵顯示在圖69中。結果示於圖70-74中，並在下面進一步詳細描述。在OLE（N = 119；91例經歷過酶替代療法[ERT]和28例ERT初治）中，82/85（96.5%）先前接受cipa/mig治療的患者繼續cipa/mig，37/38（97.4%）從alglu轉換到cipa/mig；直到第52週，90.8%的患者仍在OLE研究中。在經歷過ERT的患者中，預測6MWD %的平均變化對於cipa/mig-cipa/mig為+3.1（8.07標準差）而對於alglu-cipa/mig為-0.5（7.76），並且在ERT初治患者中，對於cipa/mig-cipa/mig為+8.6（8.57）而對於alglu-cipa/mig為+8.9（11.65）。在經歷過ERT的患者中，預測FVC %的平均變化對於cipa/mig-cipa/mig為-0.6（7.50）而對於alglu-cipa/mig為-3.8（6.23），並且在ERT初治患者中為-4.8（6.48）和-3.1（6.66）。對於cipa/mig-cipa/mig，經歷過ERT的患者和ERT初治患者的CK（U/L）平均減少分別為-132.1（215.74）和-216.9（243.66），而對於alglu-cipa/mig分別為-161.0（269.52）和-218.6（316.47）。對於cipa/mig-cipa/mig，經歷過ERT的患者和ERT初治患者的Hex4（mmol/mol）平均減少分別為-1.9（3.22）和-2.9（2.45），而對於alglu-cipa/mig分別為-2.6（3.75）

和-2.9（2.22）。在PROPEL至OLE第52週期間，84名（98.8%）cipa/mig-cipa/mig患者和36名（97.3%）alglu-cipa/mig患者發生了治療中出現的不良事件。三名患者因輸注相關反應（分別為蕁麻疹、蕁麻疹和低血壓以及過敏反應）而中止OLE。

【0463】 在PROPEL和OLE整個過程中，用cipa/mig治療的經歷過ERT的患者的6MWD和生物標誌物水平較基線有所改善，並且在PROPEL整個過程中預測FVC %保持穩定，並且在OLE至第104週整個過程中該等結果保持穩定。在PROPEL期間接受過alg/pla治療的經歷過ERT的患者在6MWD中保持穩定，預測FVC和生物標誌物水平百分比惡化，在OLE中轉換為cipa/mig後穩定或改善。對於在PROPEL和OLE整個過程中接受cipa/mig治療的ERT初治患者，6MWD和生物標誌物水平在PROPEL整個過程中得到改善，並在OLE整個過程中保持穩定。預測FVC %在PROPEL整個過程中衰退並在OLE整個過程中穩定。在PROPEL期間接受alg/pla治療並在OLE中轉換為cipa/mig的ERT初治的患者顯示出與自始至終接受cipa/mig治療的患者相似的模式。沒有發現新的安全性信號。數據表明cipa/mig治療長達104週與持久效果相關且耐受性良好，支持LOPD患者治療的長期益處。

**實例15：西帕葡糖苷酶α和阿葡糖苷酶α中N-聚糖譜的比較**

【0464】 使用LC-FLD分析了阿葡糖苷酶α和三種西帕葡糖苷酶α製劑，以評估它們的N-聚糖譜，主要根據電荷和親水性將其分為10個不同的類別。LC-FLD分析表明，與阿葡糖苷酶α相比，西帕葡糖苷酶α中雙-M6P（第10類）N-聚糖種類的水平始終如一且絕對值更高。在單唾液酸化（第2類）、雙唾液酸化（第4類）和單磷酸化（單-M6P，第6類）聚糖種類中觀察到區分西帕葡糖苷酶α和阿葡糖苷酶α的相對豐度的其他差異。結果顯示在圖75和表21中。

【0465】 分析中包括的並在圖75和表21中報告的西帕葡糖苷酶α的三種製劑係110C161009a（在第一個1000L生物反應器工程運行中以1000L工作體積生成

的非臨床藥物物質）、110C171011a（臨床藥物物質）和2S1802（臨床藥物產品）。

【0466】使用親水相互作用液相層析（HILIC）柱在超高效液相層析（UHPLC）系統的控制下結合螢光檢測（LC-FLD）完成分析，以分離由醯胺酶PNG酶F從西帕葡糖苷酶α中釋放的螢光標記的2-AA(2-鄰胺基苯甲酸)N-聚糖。類別（1-10）在表21中標記。

**[表21]：基於LC-FLD分析，在西帕葡糖苷酶α製劑和阿葡糖苷酶α中鑒定的2-AA聚糖百分比豐度的總結。**

| 聚糖類別 | 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複合型 | 21.7 | 25.1 | 24.6 | 21.9 |
| **2** | 單唾液酸化 | 17.8 | 18.1 | 18.2 | 25.8 |
| **3** | 單唾液酸化或雙唾液酸化 | 0.8 | 0.7 | 0.7 | 3.1 |
| **4** | 雙唾液酸化 | 14.4 | 11.9 | 12.0 | 31.2 |
| **5** | 三唾液酸化 | 9.5 | 8.7 | 8.4 | 7.8 |
| **6** | 單磷酸化 | 13.8 | 13.1 | 13.4 | 4.2 |
| **7** | 四唾液酸化 | 1.4 | 1.0 | 1.4 | 0.6 |
| **8** | 單磷酸化（雜合型） | 2.1 | 1.7 | 1.9 | 1.7 |
| **9** | 雙磷酸化（雜合型） | 2.8 | 2.5 | 2.6 | 1.6 |
| **10** | 雙磷酸化 | 15.7 | 17.0 | 16.8 | 2.1 |
| | 總計 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |

【0467】在LC-FLD分析中，蛋白質變性、還原並用酶PNG酶F處理以釋放N-連接聚糖。藉由SDS-PAGE分析去醣基化的蛋白質。釋放的聚糖用2-AA標記並藉由正相層析分析。簡言之，將50μg ATB200與15 μL含5% SDS和400 mM二

硫蘇糖醇（DTT）的10× 變性緩衝液混合，總體積為150 μL，在100°C下加熱10分鐘，然後冷卻至20°C。向每個變性的ATB200樣本中加入20 μL 10× NP-40和NEB Glyco反應緩衝液2，使最終反應體積達到190 μL。添加10 μL PNG酶F以釋放N-連接聚糖，並將反應在37°C下孵育16-18小時。使用10 kDa MWCO超濾離心裝置純化釋放的聚糖。將50 μL的去醣基化反應物添加至離心裝置並在14,000 RCF下離心10分鐘。在三個50 μL的步驟中添加總共150 μL的dd$H_2O$，藉由在每個洗滌步驟以14,000 RCF離心超濾裝置10分鐘，從去醣基化的ATB200中洗出聚糖。純化的聚糖藉由高速真空乾燥並用2AA標記。經標記的聚糖在95% CAN/5% $H_2O$中沈澱，並在室溫下以14,000 RCF離心10分鐘沈澱。將沈澱用95% CAN水溶液洗滌，再次離心，並使用高速真空乾燥。將乾燥的經標記的聚糖溶解在100 μL 20% CAN水溶液中，並在4°C下儲存，直至進行層析分離和分析。在標記反應期間，醣基化和去醣基化ATB200樣本各取2 μL藉由4-12% SDS-PAGE分離。使用帝王藍染料對凝膠進行染色，並使用BioRad ChemiDoc MP成像系統進行視覺化。聚糖類別分配基於之前的工作並根據已建立的峰形和層析保留時間。使用Chromeleon對聚糖進行峰積分和定量。

【0468】 總的來說，藉由LC-FLD對經2-AA標記的N-聚糖進行的N-聚糖譜分析將西帕葡糖苷酶α與阿葡糖苷酶α區分開來。如上所示，西帕葡糖苷酶α具有更高的M6P聚糖含量，強調了結構差異。特別是，西帕葡糖苷酶α具有更高的雙-M6P聚糖，這歸因於顯著更高的CIMPR結合和攝取到肌肉細胞中。

**實例16：M6P在西帕葡糖苷酶α的CIMPR結合和細胞攝取中的作用**

【0469】 去除西帕葡糖苷酶α上的磷酸基團導致CIMPR結合受阻，並阻止rhGAA攝取到龐貝氏病患者的成纖維細胞中，證明了磷酸化聚糖對於治療相關生物學效應的重要性。去磷酸化的西帕葡糖苷酶α係藉由紫色酸性磷酸酶（PAP）去除單-和雙-M6P上的磷酸基團而獲得的。

【0470】 磷酸酯單-和雙-M6P的去除由紫色酸性磷酸酶（PAP）完成。PAP水解磷酸酯和酸酐。在酸性條件下，磷酸酯單-和雙-M6P上的磷酸鹽被PAP去除，如圖76A和76B中電泳遷移率的增加所示，同時保留西帕葡糖苷酶α的酶活性，如圖76D中4MU-α-葡糖苷水解所示。西帕葡糖苷酶α用PAP處理18小時，在相同反應條件下但不添加PAP的阿葡糖苷酶α被用作模擬處理的對照。PAP處理導致從西帕葡糖苷酶α LC-FLD層析圖中完全去除雙-M6P峰和幾乎所有單-M6P峰。由於從單磷酸化和雙磷酸化高甘露糖聚糖中去除磷酸鹽，在中性高甘露糖聚糖區域中清楚地觀察到額外的峰。

【0471】 圖76C中所示的CIMPR疊加測定的結果顯示西帕葡糖苷酶α以高親和力結合CIMPR，如強條帶所示，而PAP處理的葡糖苷酶α沒有可檢測的條帶，表明不與CIMPR結合。此外，阿葡糖苷酶α的條帶強度比西帕葡糖苷酶α的強度低得多，表明對CIMPR的結合親和力較低。與模擬處理的西帕葡糖苷酶α相比，阿葡糖苷酶α和去磷酸化西帕葡糖苷酶α的CIMPR結合顯著降低，這清楚地表明N-聚糖結構單-M6P和雙-M6P對於西帕葡糖苷酶α的特性至關重要，這對其治療生物學效應很重要。

【0472】 CIMPR疊加測定係遠西方墨點法的一種變體，其中蛋白質在SDS-PAGE上分離，轉移到硝酸纖維素膜上，並用純化的CIMPR代替常規西方墨點法中的一抗進行孵育。然後藉由抗CIMPR抗體視覺化CIMPR與rhGAA蛋白上含有M6P的聚糖的結合。

【0473】 與模擬處理的西帕葡糖苷酶α和模擬處理的阿葡糖苷酶α相比，評估了龐貝氏病患者成纖維細胞對去磷酸化的西帕葡糖苷酶α的相對細胞攝取。濃度為20 nM的rhGAA的比較用於類比跨入組織的西帕葡糖苷酶α的間質濃度，如圖77A所示。經過18小時的酶攝取孵育後，將細胞洗滌2小時、收穫、裂解，然後進行GAA活性和西方墨點法分析。藉由4MU-α-葡糖苷水解測量內化的GAA，

並相對於總細胞蛋白質作圖，結果顯示在圖77B中。如圖77C所示，藉由西方墨點法分析對細胞裂解物（3 ug）的CIMPR結合進行分析。

【0474】 去磷酸化的西帕葡糖苷酶α被證明不能有效地內化到細胞中。如圖77B和77C所示，藉由4MU-α-葡糖苷水解和CIMPR結合，模擬處理的葡糖苷酶α被內化到龐貝氏病成纖維細胞中，並且內化程度高於常規阿葡糖苷酶α。然而，PAP處理的西帕葡糖苷酶α的細胞攝取被廢除。該等結果證明了M6P的重要作用，並表明由於單-M6P和雙-M6P N-聚糖的結構和數量，西帕葡糖苷酶α與阿法葡糖苷酶α相比具有更好的細胞攝取。

**實例17：臨床開發計畫總結**

【0475】 共有3項臨床試驗（研究ATB200-02、ATB200-03和ATB200-07），包括經歷過ERT的和ERT初治的成人龐貝氏病患者（≥18歲）兩者（研究ATB200-02和ATB200-03）或僅包括經歷過ERT的成人龐貝氏病患者（研究ATB200-07），其將被納入本臨床功效總結（SCE），詳情見表22。一百五十二名成人受試者摻加針對西帕葡糖苷酶α/麥格司他的臨床開發計畫，其中在正在進行的1/2期研究ATB200-02中，29名成人受試者暴露於西帕葡糖苷酶α/麥格司他，並且在已完成的3期研究ATB200-03中，123名成人受試者暴露於西帕葡糖苷酶α/麥格司他（85名受試者）或阿葡糖苷酶α/安慰劑（38名受試者）。在參加研究ATB200-03的123名受試者（85名接受西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療；38名接受阿葡糖苷酶α/安慰劑治療）中，共有117名受試者完成了研究，然後參加了研究ATB200-07。另外兩名受試者（1107-1681和2010-1352）沒有完成研究ATB200-03但參加了研究ATB200-07，使參加研究ATB200-07（OLE-ES群體）的受試者總數達到119（91 名經歷過ERT和28名ERT初治）。

**[表22]：成人受試者臨床研究總結**

| 研究編號 | 研究設計 | 研究目標 | 受試者數目 | 治療（劑量、形式、給藥和途徑） | 關鍵終點 |
|---|---|---|---|---|---|
| ATB200-02（進行中） | 首次用於人體、開放標籤、固定順序遞增劑量<br>1/2期 | 第1階段：安全性、耐受性和PK評估（已完成）<br>第2階段：安全性耐受性、PK和PD（已完成）<br>第3階段（進行中；2年）和第4階段（進行中）：長期安全性、耐受性、功效、PK、PD和免疫原性 | N = 29 | 第1階段：單次遞增劑量5、10和20 mg/kg西帕葡糖苷酶α IV<br>第2階段：3劑20 mg/kg西帕葡糖苷酶α IV + 130 mg麥格司他口服膠囊QOW，隨後3劑20 mg/kg西帕葡糖苷酶α IV + 260 mg麥格司他口服膠囊QOW<br>第3和第4階段：20 mg/kg西帕葡糖苷酶α IV + 260 mg 麥格司他口服膠囊QOW | 所有階段，所有佇列：安全性評估<br>第1和第2階段，佇列1：血漿西帕葡糖苷酶α和麥格司他的PK<br>第3和第4階段，佇列2：肌肉力量和PRO<br>第3和第4階段，佇列1、3和4：功能評估（運動功能、肌肉力量、肺功能）和PRO |
| ATB200-03（已完成） | 多中心、雙盲、隨機、主動控制<br>3期 | 功效與安全性<br>主要終點：以米為單位測量的6MWD（這係6MWT中步行的距離）從基線到第52週的變化 | N = 123 | 20 mg/kg西帕葡糖苷酶α IV + 195/260 mg 麥格司他口服膠囊QOW（85名受試者）<br>20 mg/kg阿葡糖苷酶α IV +安慰劑口服膠囊QOW（38名受試者） | 主要終點：第52週時6MWD<br>第一個關鍵次要終點：預測FVC %<br>其他關鍵次要終點依次為：<br>• MMT下肢<br>• 第26週時6MWD<br>• PROMIS-身體功能<br>• PROMIS-疲勞<br>• GSGC |

**[表22]：成人受試者臨床研究總結（續）**

| 研究編號 | 研究設計 | 研究目標 | 受試者數目 | 治療（劑量、形式、給藥和途徑） | 關鍵終點 |
|---|---|---|---|---|---|

| 研究編號 | 研究設計 | 研究目標 | 受試者數目 | 治療（劑量、形式、給藥和途徑） | 關鍵終點 |
|---|---|---|---|---|---|
| ATB200-07（進行中） | 研究ATB200-03的多中心、開放標籤擴展研究 3期 | 安全性和功效評估 | N = 119[a] | 20 mg/kg西帕葡糖苷酶α IV + 195/260 mg 麥格司他口服膠囊QOW | 長期安全性、功效、PD、PK、PRO |

縮寫：6MWD = 6分鐘步行距離；6MWT = 6分鐘步行測試；GSGC = 步態、樓梯、高爾斯動作和椅子測試；IV = 靜脈內（地）；LOPD = 遲發性龐貝氏病；MMT = 徒手肌力測試；N = 受試者數量；PD = 藥效學；PK = 藥物動力學；PRO = 患者報告的結果；PROMIS = 患者報告的結果測量資訊系統；QOW = 每隔一週一次

[a] 兩名受試者停止研究ATB200-03並參加研究ATB200-07。在研究ATB200-07中共有119名受試者入組，118名受試者接受了給藥。

注意：在研究ATB200-03和ATB200-07中，麥格司他劑量在< 50 kg的受試者中調整為195 mg。

**1/2期研究ATB200-02**

【0476】 如上文關於實例8和實例11所述，研究ATB200-02係一項正在進行的開放標籤、固定順序、單次和多次遞增劑量、首次人體研究，用於評估單獨IV西帕葡糖苷酶α以及與口服麥格司他共同投與時在患有龐貝氏病的成人受試者中的安全性、耐受性、PK、PD、功效和免疫原性。研究設計包括4個階段和4個佇列，第1和第2階段僅用於佇列1，第3和第4階段用於所有4個佇列（圖79）。SCE中總結的西帕葡糖苷酶α/麥格司他的功效數據來自第3階段和第4階段。

【0477】 研究中的4個佇列如下：

- 佇列1：經歷過ERT（2至6歲）的能行走受試者（11名受試者）
- 佇列2：經歷過ERT（≥ 2年）的不能行走的受試者（6名受試者）
- 佇列3：ERT初治的能行走受試者（6名受試者）
- 佇列4：經歷過ERT（≥ 7年）的能行走受試者（6名受試者）

【0478】根據表22中的治療分配，受試者被投與西帕葡糖苷酶α作為單一藥劑或西帕葡糖苷酶α與麥格司他共同投與。

**[表22]：第1、第2、第3和第4階段的治療分配 — 研究ATB200-02**

| 佇列 | 第1階段（6週） | | | 第2階段（12週） | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 第1時間段<br>單劑量 | 第2時間段<br>單劑量 | 第3時間段<br>單劑量 | 第4時間段<br>3個多劑量<br>共同投與 | 第5時間段<br>3個多劑量<br>共同投與 |
| 佇列1<br>（n = 11） | 5 mg/kg<br>ATB200 | 10 mg/kg<br>ATB200 | 20 mg/kg<br>ATB200 | 20 mg/kg ATB200 +<br>130 mg AT2221 | 20 mg/kg ATB200 +<br>260 mg AT2221 |
| 佇列2<br>（n = 6） | NA | | | | |
| 佇列3<br>（n = 6） | NA | | | | |
| 佇列4<br>（n = 6） | NA | | | | |

| 佇列 | 第3階段（2年）<br>多劑量，24個月，擴展<br>共同投與 | 第4階段（直到批准）<br>多劑量、長期、擴展<br>共同投與 |
|---|---|---|
| 佇列1<br>（n = 11） | 20 mg/kg ATB200 +<br>260 mg AT2221 | 20 mg/kg ATB200 +<br>260 mg AT2221 |
| 佇列2<br>（n = 6） | 20 mg/kg ATB200 +<br>260 mg AT2221 | 20 mg/kg ATB200 +<br>260 mg AT2221 |
| 佇列3<br>（n = 6） | 20 mg/kg ATB200 +<br>260 mg AT2221 | 20 mg/kg ATB200 +<br>260 mg AT2221 |
| 佇列4<br>（n = 6） | 20 mg/kg ATB200 +<br>260 mg AT2221 | 20 mg/kg ATB200 +<br>260 mg AT2221 |

縮寫：AT2221 = 麥格司他；ATB200 = 西帕葡糖苷酶α；NA = 不適用；n = 受試者數量；SSC = 安全指導委員會

注意：2名前哨受試者中至少有1名將完成第5時間段、第2階段給藥，安全數據

將由SSC審查，然後才能對佇列2和3中的任何新入組受試者進行給藥。佇列2和佇列3中的前2名受試者也將作為各自佇列的前哨受試者。

【0479】 1/2期研究ATB200-02的主要目標係評估單獨使用西帕葡糖苷酶α以及與口服麥格司他共同投與時的安全性、耐受性、PK、PD和功效。

【0480】 關鍵3期研究ATB200-03的劑量選擇基於研究ATB200-02的PK、PD/生物標誌物、功效和安全性數據。西帕葡糖苷酶α的PK在研究ATB200-02的第1階段和第2階段得到了很好的表徵，該研究表明西帕葡糖苷酶α的總體暴露增加，並且隨著添加麥格司他暴露的額外增加。西帕葡糖苷酶α血漿暴露與麥格司他的這種增加與非臨床研究的數據一致，在該等研究中，增加的暴露與肝醣的增量式減少和肌肉力量的增加有關。

【0481】 研究ATB200-02提供了第3階段和第4階段的支持性功效數據，表明第1階段和第2階段中觀察到的暴露量增加導致第3階段和第4階段中使用西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療後在廣泛的終點具有臨床意義的改善。在可獲得數據的情況下，觀察到48個月的功效改善，支持西帕葡糖苷酶α/麥格司他的長期功效。

**第3階段研究ATB200-03**

【0482】 關鍵的第3階段研究ATB200-03已經完成。ATB200-03研究係一項雙盲、隨機、多中心、全球對照試驗，旨在評估與阿葡糖苷酶α/安慰劑（批准的療法）相比，西帕葡糖苷酶α/麥格司他對先前接受過阿葡糖苷酶α治療（即，經歷過ERT）或從未接受過ERT（即，ERT初治）的成年LOPD受試者的功效和安全性。Myozyme（阿葡糖苷酶α）藉由第三方供應商直接從賽諾菲健贊公司（Sanofi Genzyme）採購。阿米克斯公司（Amicus）對賽諾菲健贊公司的文檔進行了科學評估。結果表明，美國產品（Lumizyme）和非美國產品（Myozyme）具有可比性。以2:1的比例隨機分配受試者每隔一週接受一次西帕葡糖苷酶α/麥格司他或阿葡糖苷酶α/安慰劑，持續52週（圖80）。

【0483】 研究ATB200-03的主要終點係評估與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比，西帕葡糖苷酶α/麥格司他共同投與對藉由6MWT測量的運動功能的功效。第一個關鍵次要終點係評估與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比，西帕葡糖苷酶α/麥格司他共同投與對藉由坐姿預測FVC百分比來測量的肺功能的功效。其他關鍵次要終點包括MMT下肢得分、第26週時的6MWD、PROMIS®-身體功能簡表20a總得分、PROMIS-疲勞簡表8a總得分和GSGC總得分。其他次要終點包括對運動功能、肺功能、肌肉力量和PRO的額外評估。還評估了肌肉損傷（CK）和疾病底物（Hex4）的生物標誌物。

**第3階段研究ATB200-07**

【0484】 研究ATB200-07係一項正在進行的開放標籤擴展（OLE）研究，旨在評估西帕葡糖苷酶α/麥格司他在完成研究ATB200-03的成年LOPD受試者中的長期安全性和功效。在研究ATB200-03中接受阿葡糖苷酶α/安慰劑治療的受試者在研究ATB200-07中轉為西帕葡糖苷酶α/麥格司他。研究劑量和時間表從研究ATB200-03保持。

**研究結果總結**

【0485】 本節總結了正在進行的1/2期開放標籤研究ATB200-02、已完成的關鍵3期研究ATB200-03和3期長期擴展研究ATB200-07的結果。來自該等研究的數據單獨呈現並作為匯總數據呈現。

**實例18：研究ATB200-02**

【0486】 ATB200-02研究係一項1/2期研究，西帕葡糖苷酶α/麥格司他的功效主要基於研究第3和第4階段的結果。

【0487】 截至2021年12月，29名受試者接受了西帕葡糖苷酶α/麥格司他，3名受試者提前停藥，26名受試者目前正在進行第4階段。三名（10.3%）受試者在第3階段中止了研究。平均（標準差[SD]）暴露持續時間為48.4（18.04）個月。

【0488】 在研究ATB200-02中，所有經歷過ERT的受試者和ERT初治受試者都表現出基於基線特徵的龐貝氏病的顯著影響。對於佇列1和佇列4（16名經歷過ERT的能行走受試者），基線時平均（SD）預測6MWD %為60.2%（16.20%）。對於佇列3（6名ERT初治能行走受試者），基線時平均（SD）預測6MWD %為67.8%（12.61%）。

【0489】 參加研究前經歷過ERT的受試者的ERT治療持續時間> 2年，總體中位劑量為20 mg/kg。ERT治療的平均（SD）持續時間範圍為佇列1的5.1（1.27）年至佇列4的10.6（2.06）年。

【0490】 下面引用的研究ATB200-02的結果基於2021年12月13日的數據截止日期，此時除佇列4中的受試者外，所有受試者均已完成至少48個月的跟蹤（或已停止）。支持長期功效的長達48個月的數據列於此處，並包含在下面的匯總分析中。研究ATB200-02的數據評估了龐貝氏病的主要臨床領域，如運動功能、肺功能和肌肉力量，支持研究ATB200-03獲得的結果。

**運動功能**

【0491】 在研究ATB200-02中，對所有能行走受試者（即，佇列1、3和4）的運動功能進行了評估（表23，圖46A-46D）。在第3階段和第4階段藉由共同投與20 mg/kg IV輸注的西帕葡糖苷酶α和260 mg麥格司他治療48個月後，在經歷過ERT的受試者（佇列1和佇列4）、ERT初治受試者（佇列3）和總體（佇列1、3和4）中觀察到了具有臨床意義的運動功能改善，如藉由6MWT所測量的（表23）。在1-2年內觀察到初步改善，並保持高於基線至第48個月。

【0492】 經歷過ERT的佇列和ERT初治佇列均顯示預測6MWD %從基線持續到48個月的平均改善（圖46C和46D；表26B），其中88.9%的經歷過ERT的患者和100%的ERT初治患者在第48個月時平均預測6MWD %相對於基線改善。在12個月、24個月、36個月和48個月的跟蹤之後，分別有13/16、9/13、6/12和6/9

的經歷過ERT的患者的以米為單位的平均6MWD相對於基線在數值上有所改善。在12個月、24個月、36個月和48個月的跟蹤之後，分別有6/6、6/6、4/5和4/4的ERT初治患者的以米為單位的平均6MWD相對於基線在數值上有所改善。

**[表23]：從基線到第48個月的6-MWD（米）總結—第3階段和第4階段（功效群體）—研究ATB200-02**

| 就診/統計 | 佇列1 + 佇列4<br>（N = 16） | 佇列3<br>（N = 6） | 佇列1 + 佇列3 + 佇列4<br>（N = 22） |
|---|---|---|---|
| 基線 | | | |
| n | 16 | 6 | 22 |
| 均數（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 |
| 中位數（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 |
| 從基線到第12個月的變化 | | | |
| n | 16 | 6 | 22 |
| 均數（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 |
| 中位數（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 |
| 從基線到第24個月的變化 | | | |
| n | 13 | 6 | 19 |
| 均數（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 |
| 中位數（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 |
| 從基線到第36個月的變化 | | | |
| n | 12 | 5 | 17 |
| 均數（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 |

| 就診/統計 | 佇列1 + 佇列4<br>（N = 16） | 佇列3<br>（N = 6） | 佇列1 + 佇列3 + 佇列4<br>（N = 22） |
|---|---|---|---|
| 中位數（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]：從基線到第48個月的6-MWD（米）總結—第3階段和第4階段（功效群體）—研究ATB200-02（續）**

| 就診/統計 | 佇列1 + 佇列4<br>（N = 16） | 佇列3<br>（N = 6） | 佇列1 + 佇列3 + 佇列4<br>（N = 22） |
|---|---|---|---|
| 從基線到第48個月的變化 | | | |
| n | 9 | 4 | 13 |
| 均數（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 |
| 中位數（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 |

縮寫：6MWD = 6分鐘步行距離；CI = 置信區間；max = 最大值；min = 最小值；N = 入組的受試者總數；n = 受試者子集；Q1 = 第一四分位數；Q3 = 第三四分位數；SD = 標準差

注意：6分鐘步行距離（6MWD）係在6分鐘步行測試中以米為單位的步行距離。它僅由能行走受試者執行。

【0493】 共同投與20 mg/kg IV輸注的西帕葡糖苷酶α和260 mg麥格司他（即在第2階段、第5階段、第3階段和第4階段）還導致經歷過ERT的和ERT初治的能行走受試者的其他運動功能量度（包括10MWT、GSGC和TUG）的改善。在1至2年內觀察到初步改善，並保持高於基線至第48個月。

**肺功能**

【0494】 在第3階段和第4階段治療48個月後，共同投與20 mg/kg IV輸注的西帕葡糖苷酶α和260 mg麥格司他（即在第2階段、第5階段、第3階段和第4階段）導致經歷過ERT的受試者（佇列1和佇列4）、ERT初治受試者（佇列3）和總體

（佇列1、3和4）的預測FVC %穩定或改善（表24，圖47A-47B）。直到第48個月，該等值都保持在或高於基線。對於佇列2（不能行走的受試者），預測坐姿FVC %在2名受試者中保持穩定，可用數據長達36個月。

【0495】 在經歷過ERT的佇列中，在長達48個月的跟蹤中，以預測坐姿FVC %表示的平均CFBL總體上穩定（CFBL±3%分）（圖47A，表26B），其中66.7%的經歷過ERT的患者和75%的ERT初治患者在第48個月時有所改善（CFBL > 3%分）。在12、24、36和48個月的跟蹤後，預測坐姿FVC %在9/16、11/13、8/10和4/6的經歷過ERT的患者中相對於基線分別改善（> 3%分）或保持穩定（±3%分）。這進一步得到了最大呼氣壓力（MEP）結果的支持，最大呼氣壓力（MEP）結果在經歷過ERT的患者中在12、24、36和48個月的跟蹤中在數值上也相對於基線有所改善（表26B）。

【0496】 在ERT初治佇列中，以預測坐姿FVC %表示的平均CFBL在第3個月時有所改善，然後在長達48個月的跟蹤期間保持總體上穩定（圖47B，表26B），除了只有一名患者在第21個月時預測坐姿FVC %大幅下降，這在第24個月的跟蹤時恢復到之前的水平。在48個月的跟蹤中，與經歷過ERT的佇列相比，ERT初治佇列中平均預測坐姿FVC %改善更為顯著（圖47B，表26B）。在12、24、36和48個月的跟蹤後，預測坐姿FVC %在5/6、6/6、5/5和4/4的ERT初治患者中相對於基線分別改善（> 3%分）或保持穩定（±3%分）。預測坐姿FVC百分比數據得到其他肺部測量結果的類似結果的支持，包括%預測最大吸氣壓力（MIP）和MEP。在12、24、36和48個月的跟蹤中，ERT初治患者的MIP在數值上有所改善（表26B）。

【0497】 不能行走的經歷過ERT的佇列2的長期功效數據有限。36個月後兩名不能行走的經歷過ERT的患者和一名48個月跟蹤患者的預測坐姿FVC百分比數據可用。跟蹤36個月後，相對於基線，一名患者有所改善，另一名患者惡化。

在48個月的跟蹤後具有可用數據的患者與基線相比總體穩定（表26B）。

**[表24]：從基線到第48個月的預測坐姿FVC %總結—第3階段和第4階段（能行走受試者；功效群體）—研究ATB200-02**

| 就診/統計 | 佇列1 + 佇列4<br>（N = 16） | 佇列3<br>（N = 6） | 佇列1 + 佇列3 + 佇列4<br>（N = 22） |
|---|---|---|---|
| 基線 | | | |
| n | 16 | 6 | 22 |
| 均數（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 |
| 中位數（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 |
| 從基線到第12個月的變化 | | | |
| n | 16 | 6 | 22 |
| 均數（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 |
| 中位數（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 |
| 從基線到第24個月的變化 | | | |
| n | 13 | 6 | 19 |
| 均數（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 |
| 中位數（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 |
| 從基線到第36個月的變化 | | | |
| n | 10 | 5 | 15 |
| 均數（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 |
| 中位數（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 |
| 從基線到第48個月的變化 | | | |
| n | 6 | 4 | 10 |
| 均數（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 |

| 就診/統計 | 佇列1 + 佇列4<br>（N = 16） | 佇列3<br>（N = 6） | 佇列1 + 佇列3 + 佇列4<br>（N = 22） |
|---|---|---|---|
| 中位數（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 |

縮寫：CI = 置信區間；FVC = 用力肺活量；max = 最大值；min = 最小值；N = 入組的受試者總數；n = 受試者子集；PFT = 肺功能測試；Q1 = 第一四分位數；Q3 = 第三四分位數；SD = 標準差

注意：PFT將在基線、第3階段每3個月和第4階段每6個月對所有能行走受試者和沒有侵入性通氣支持的不能行走受試者進行總結。較高的值表示改善肺活量。

**肌肉力量**

【0498】 在第3階段和第4階段治療48個月後，共同投與20 mg/kg IV輸注的西帕葡糖苷酶α和260 mg麥格司他（即在第2階段、第5階段、第3階段和第4階段）導致經歷過ERT的能行走受試者（佇列1和佇列4）和ERT初治能行走受試者（佇列3）的下肢和上肢以及近端肌肉群的肌肉力量穩定或改善，如藉由MMT和QMT所測量的。在不能行走的受試者（佇列2；僅上肢）中觀察到穩定的結果。下肢MMT的結果顯示在表25和圖48A和48B中。

【0499】 無論基線時的ERT治療狀態如何，能行走患者都經歷了基於MMT下肢得分的肌肉力量的初始早期改善，該改善維持長達48個月的跟蹤（圖48A和48B，表26B）。經過12、24、36和48個月的跟蹤，MMT下肢得分在14/15、11/13、10/10和8/8的經歷過ERT的患者以及4/5、4/5、4/4和3/4的ERT初治患者中分別在數值上改善。

**[表25]：從基線到第48個月的MMT下肢得分總結—第3階段和第4階段（能行走受試者；功效群體）—研究ATB200-02**

| 就診/統計 | 佇列1 + 佇列4<br>（N = 16） | 佇列3<br>（N = 6） | 佇列1 + 佇列3 + 佇列4<br>（N = 22） |
|---|---|---|---|
| 基線 | | | |

| 就診/統計 | 佇列1 + 佇列4<br>（N = 16） | 佇列3<br>（N = 6） | 佇列1 + 佇列3 + 佇列4<br>（N = 22） |
|---|---|---|---|
| n | 15 | 5 | 20 |
| 均數（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 |
| 中位數（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 |
| 從基線到第12個月的變化 | | | |
| n | 15 | 5 | 20 |
| 均數（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 |
| 中位數（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 |
| 從基線到第24個月的變化 | | | |
| n | 13 | 5 | 18 |
| 均數（SD） | 2.1 (2.18) | 3.0 (3.94) | 2.3 (2.68) |
| 平均值的95% CI | 0.8, 3.4 | -1.9, 7.9 | 1.0, 3.7 |
| 中位數（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 |
| 從基線到第36個月的變化 | | | |
| n | 10 | 4 | 14 |
| 均數（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 |
| 中位數（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 |
| 從基線到第48個月的變化 | | | |
| n | 8 | 4 | 12 |
| 均數（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 |
| 中位數（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 |

縮寫：CI = 置信區間；FVC = 用力肺活量；max = 最大值；min = 最小值；N = 入組的受試者總數；n = 受試者子集；PFT = 肺功能測試；Q1 = 第一四分位數；Q3

= 第三四分位數；SD = 標準差

注意：MMT將對所有受試者在基線時、在第3階段每3個月，在第4階段每6個月進行總結。較高的值表示疾病對肌肉功能的影響較小。

【0500】 在6MWD和FVC的48個月治療中觀察到的有利結果得到了肌肉力量、運動功能和呼吸功能等其他幾個次要終點的有利方向趨勢的支持。該等發現得到了PRO結果（FSS、R-PAct、RHS和SGIC）以及PGIC結果的進一步支持，該等結果表明受試者感知疲勞、進行日常生活活動的能力和整體身體健康得到了顯著改善，支持這種治療的總體益處。

【0501】 PRO支持在運動功能、肌肉力量和肺功能測試中觀察到的改善。在基線時，所有患者都受到疲勞的顯著影響，如良好的平均CFBL FSS所示，疲勞在48個月的跟蹤後有所改善。在48個月的跟蹤後，所有能行走的患者都報告了與基線分數相比穩定的R-PAct得分和RHS（表26B）。在48個月的跟蹤後，所有佇列中大多數患者的整體身體健康的SGIC結果得到改善（表26C）。PGIC結果表明所有佇列在48個月的跟蹤後都有改善或穩定，並支持其他功效結局的結果（表26C）。

【0502】 兩個不能行走的經歷過ERT的患者長達48個月的跟蹤的PRO結果可用，並證明與基線相比，FSS和穩定的RHS得分有所改善。R-PAct得分還顯示在兩名不能行走的經歷過ERT的患者中從基線到跟蹤48個月的平均改善，表明進行日常活動和參與社交場合的能力有所改善（表26B）。一名患者報告沒有變化，一名患者報告SGIC整體身體健康狀況相對於基線有所改善。兩名經歷過ERT的不能行走的患者的PGIC結果顯示一名患者沒有變化而另一名患者衰退（表26C）。

**藥效學結果**

【0503】 在48個月的跟蹤期間，西帕葡糖苷酶α加麥格司他與經歷過ERT

的和ERT初治的能行走佇列中血漿CK相對於基線的平均降低有關（圖49B，表26B）。在12、24、36和48個月的跟蹤後，血漿CK水平分別在13/15、14/15、9/11和8/9的經歷過ERT的患者中以及在6/6、6/6、5/5和4/5的ERT初治患者中在數值上相對於基線降低。在基線和第48個月有可用CK數據的患者中，九名經歷過ERT的患者中有六名（66.7%）在基線時CK水平異常，其中兩名（33.3%）在第48個月時CK水平正常；五分之二（40.0%）ERT初治患者在基線時CK水平異常，在第48個月時仍然異常。在16/16、11/14、11/12和6/9的經歷過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個月跟蹤後，尿Hex4也觀察到類似的趨勢，其在數值上相對於基線下降（圖49A，表26B）。在基線和月時有Hex4數據的患者中，九名經歷過ERT的患者中有五名（55.6%）在基線時Hex4水平異常，其中四名（80.0%）在48個月時Hex4水平正常；五分之四（80.0%）ERT初治的能行走患者在基線時有異常的Hex4測量值，其中一名（25.0%）在第48個月時恢復到正常的Hex4水平。

【0504】不能行走的經歷過ERT的患者血漿CK水平相對於基線持續下降：在12、24、36和48個月時分別為20.8%（n = 5）、25.3%（n = 5）、27.1%（n = 3）和23.7%（n = 2）。此外，在跟蹤期間，尿Hex4水平也相對於基線持續下降。在12、24、36和48個月後，Hex4水平分別相對於基線下降15.6%（n = 5）、34.1%（n = 5）、36.5%（n = 4）和9.4%（n = 2）（表26B）。

**藥物動力學結果**

【0505】僅對佇列1（經歷過ERT）和佇列3（ERT初治）採集血漿GAA蛋白和麥格司他濃度的血液樣本。為防止對患者造成任何不當負擔，未對不能行走的患者（佇列2）以及佇列4中的患者（由於與佇列1相似）進行PK血液採樣。在5 mg/kg、10 mg/kg和20 mg/kg西帕葡糖苷酶α的單次遞增劑量後，藉由特徵肽T09測量的血漿總GAA蛋白以劑量依賴性方式增加。一般而言，峰特徵肽T09濃

度的中位時間（$t_{max}$）在所有治療中相似，並且與大約4小時的西帕葡糖苷酶輸注持續時間一致。暴露（$C_{max}$和血漿藥物濃度-時間曲線下面積[AUC]）以劑量依賴性方式增加。佇列1和佇列3能行走患者的血漿總GAA蛋白暴露相似。在佇列1和佇列3能行走患者中，血漿麥格司他暴露以劑量依賴性方式增加。佇列1受試者的48個月稀疏PK採樣表明暴露與研究早期（第2階段）的暴露相似，並證實對西帕葡糖苷酶α暴露缺乏免疫原性影響。

【0506】 西帕葡糖苷酶α輸注開始前一小時投與麥格司他導致AUC大於單獨20 mg/kg西帕葡糖苷酶α。麥格司他共同投與後分佈相半衰期顯著增加。麥格司他被迅速從循環中清除。

【0507】 龐貝氏病重要領域的功效數據表明，共同投與20 mg/kg IV輸注的西帕葡糖苷酶α和260 mg 麥格司他可在運動功能、PFT和肌肉力量方面產生具有臨床意義的改善。能行走受試者的改善在各個功效領域得到證明，表26A中提供的證據通常支持改善維持48個月（如果數據可用）。

**[表26A]：能行走受試者中的功效評估總結—第24個月和第48個月第3階段和第4階段相對於基線的變化—研究ATB200-02**

| 臨床反應評估（選定的藥效學和功效） | 平均（SD）基線和24個月和48個月時相對於基線的變化 | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 經歷過ERT 佇列1 + 佇列4（N = 16）[a] | | | ERT初治 佇列3（N = 6）[a] | | | 總體 佇列1 + 佇列3 + 佇列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）（n=16） | 25.2（63.30）（n=13） | 20.7（101.84）（n = 9） | 396.0（75.20）（n = 6） | 54.4（36.18）（n = 6） | 52.2（46.59）（n = 4） | 394.2（107.59）（n = 22） | 34.4（56.82）（n=19） | 30.4（87.67）（n=13） |
| 坐姿FVC（%預測） | 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） |

| 臨床反應評估（選定的藥效學和功效） | 平均（SD）基線和24個月和48個月時相對於基線的變化 | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | **經歷過ERT 佇列1 + 佇列4（N = 16）[a]** | | | **ERT初治 佇列3（N = 6）[a]** | | | **總體 佇列1 + 佇列3 + 佇列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** |
| MMT（總得分） | 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） |

縮寫：6MWD = 6分鐘步行距離；BSL = 基線；CFB = 相對於基線的變化；ERT = 酶替代療法；FVC = 用力肺活量；GSGC = 步態、樓梯、高爾斯動作和椅子測試；MMT = 徒手肌力測試；mo = 月；N = 受試者數量

注意：對於GSGC，負數表示有所改善。

[a] 基線時的n。括弧中顯示了基線時n的任何差異。

**[表26B]：能行走和不能行走的臨床結果總結**

| **結果測量** | **能行走患者** | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 經歷過ERT | | | | ERT初治 | | | |
| **時間點（月）** | 12 | 24 | 36 | 48 | 12 | 24 | 36 | 48 |
| **運動功能** | | | | | | | | |
| 預測 6MWD 百分比 | | | | | | | | |
| n | 16 | 13 | 12 | 9 | 6 | 6 | 5 | 4 |
| CFBL 平均值（SD） | 6.1 (7.84) | 5.4 (10.56) | 3.4（14.66） | 5.9 (17.36) | 10.7 (3.93) | 11.0 (5.06) | 9.0 (7.98) | 11.7 (7.69) |
| 6MWD，米 | | | | | | | | |
| n | 16 | 13 | 12 | 9 | 6 | 6 | 5 | 4 |
| CFBL 平均值（SD） | 33.5 (49.62) | 25.2 (63.30) | 9.8（85.98） | 20.7 (101.94) | 57.0 (29.96) | 54.4 (36.18) | 43.5 (45.19) | 52.2 (46.59) |
| 10 米步行測 | | | | | | | | |

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 試，秒<br>n<br>CFBL 平均值（SD） | 16<br>-0.1（1.47） | 14<br>1.0 (3.19) | 12<br>3.9<br>（12.56） | 9<br>0.6 (1.74) | 6<br>-0.9（0.75） | 6<br>-0.5（1.00） | 5<br>0.1 (0.61) | 5<br>0.7 (1.66) |
| 步態、樓梯、高爾斯和椅子<br>n<br>CFBL 平均值（SD） | 16<br>-1.3（4.39） | 14<br>-1.6（5.20） | 12<br>-1.1<br>（5.18） | 9<br>-1.0（6.02） | 6<br>-0.8（2.23） | 6<br>-1.7（2.07） | 5<br>-2.0（2.12） | 5<br>-2.4（2.70） |
| 計時起立行走，秒<br>n<br>CFBL 平均值（SD） | 15<br>-1.5（2.68） | 13<br>0.1 (2.24) | 12<br>-1.5<br>（3.68） | 9<br>-0.6（2.41） | 6<br>-0.7（1.95） | 6<br>-1.0（2.00） | 5<br>0.5<br>（3.59） | 5<br>0.3 (2.33) |
| **肺功能** | | | | | | | | |
| 預測坐姿 FVC 百分比<br>n<br>CFBL 平均值（SD） | 16<br>-1.2（5.95） | 13<br>1.0 (7.96) | 10<br>-0.3<br>（6.68） | 6<br>1.0 (6.42) | 6<br>3.2 (8.42) | 6<br>4.7 (5.09) | 5<br>6.2 (3.35) | 4<br>8.3 (4.50) |
| 預測最大吸氣壓力百分比%<br>n<br>CFBL 平均值（SD） | 16<br>3.7 (11.61) | 13<br>4.5 (20.67) | 11<br>-0.5<br>（22.23） | 6<br>-3.8（5.41） | 6<br>8.0 (15.46) | 6<br>18.7<br>(23.90) | 5<br>12.5<br>(20.71) | 4<br>16.1<br>(17.23) |
| 預測最大呼氣壓力百分比%<br>n<br>CFBL 平均值（SD） | 16<br>9.4 (21.37) | 13<br>16.8<br>(21.88) | 11<br>13.7<br>(26.79) | 6<br>17.9<br>(30.81) | 6<br>11.6<br>(18.16) | 6<br>17.9<br>(16.25) | 5<br>14.2<br>(20.27) | 4<br>24.8<br>(24.15) |
| 預測嗅鼻吸氣壓力百分比% | | | | | | | | |

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| n<br>CFBL 平均值（SD） | 16<br>2.1 (18.56) | 13<br>5.3 (23.86) | 11<br>-2.3（23.65） | 6<br>7.3 (21.79) | 6<br>9.4 (13.04) | 6<br>8.1 (11.48) | 5<br>4.3 (9.30) | 4<br>4.6 (7.76) |
| **肌肉力量** | | | | | | | | |
| 下半身 MMT 得分<br>n<br>CFBL 平均值（SD） | 15<br>3.1（2.34） | 13<br>2.1 (2.18) | 10<br>2.5（3.69） | 8<br>3.5 (2.51) | 5<br>2.8 (4.97) | 5<br>3.0 (3.94) | 4<br>（3.3（2.75） | 4<br>（1.0）3.83） |
| 上半身 MMT 得分<br>n<br>CFBL 平均值（SD） | 15<br>1.3 (2.52) | 13<br>0.5 (2.30) | 11<br>0.8（2.75） | 8<br>0.5 (2.00) | 6<br>0.0 (1.67) | 6<br>-1.5（2.17） | 5<br>1.0 (1.87) | 5<br>-1.4（2.61） |
| MMT 總得分<br>n<br>CFBL 平均值（SD） | 15<br>4.3 (3.20) | 13<br>2.5 (3.45) | 10<br>3.6（5.23） | 8<br>4.0 (3.70) | 5<br>2.4 (4.39) | 5<br>2.0 (5.70) | 4<br>3.5 (3.00) | 4<br>-1.3（4.99） |
| **患者報告的結果** | | | | | | | | |
| 拉施（Rasch）建立的龐貝氏-比活性<br>n<br>CFBL平均值（SD） | 15<br>1.3 (2.97) | 13<br>2.2 (1.52) | 11<br>-0.1（3.24） | 9<br>-0.3（2.96） | 6<br>2.0 (3.46) | 6<br>2.2 (3.43) | 5<br>1.4 (1.52) | 5<br>-0.6（5.22） |
| 鹿特丹障礙（Rotterdam Handicap）度量<br>n<br>CFBL平均值（SD） | 15<br>-0.3（3.01） | 14<br>-1.1（3.91） | 11<br>-2.3（4.44） | 9<br>-2.3（3.16） | 6<br>-0.4（2.06） | 6<br>-0.4（2.14） | 5<br>-1.2（0.84） | 5<br>-1.3（2.56） |

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

| **結果測量** | 不能行走的患者 | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 經歷過ERT | | | |
| **時間點（月）** | 12 | 24 | 36 | 48 |
| **運動功能** | n/a | n/a | n/a | n/a |
| 預測 6MWD 百分比<br>n<br>CFBL 平均值（SD） | n/a | n/a | n/a | n/a |
| 6MWD，米<br>n<br>CFBL 平均值（SD） | n/a | n/a | n/a | n/a |
| 10 米步行測試，秒<br>n<br>CFBL 平均值（SD） | n/a | n/a | n/a | n/a |
| 步態、樓梯、高爾斯和椅子<br>n<br>CFBL 平均值（SD） | n/a | n/a | n/a | n/a |
| 計時起立行走，秒<br>n | n/a | n/a | n/a | n/a |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| CFBL 平均值（SD） | | | | |
| **肺功能** | | | | |
| 預測坐姿 FVC 百分比 | | | | |
| n | 2 | 1 | 2 | 1 |
| CFBL 平均值（SD） | 2.5 (9.19) | 2.0 (N/A) | -2.0（7.07） | -1.0（N/A） |
| 預測最大吸氣壓力百分比% | | | | |
| n | 3 | 2 | 3 | 2 |
| CFBL 平均值（SD） | 1.1 (4.71) | 3.3 (1.39) | -0.4（5.20） | 3.9 (2.35) |
| 預測最大呼氣壓力百分比% | | | | |
| n | 3 | 2 | 3 | 2 |
| CFBL 平均值（SD） | 10.6 (10.28) | 21.1 (25.72) | 11.5 (22.30) | 21.0 (27.00) |
| 預測嗅鼻吸氣壓力百分比% | | | | |
| n | 3 | 2 | 3 | 2 |
| CFBL 平均值（SD） | 4.5 (13.96) | 7.8 (13.65) | -0.4（4.03） | -4.1（3.26） |
| **肌肉力量** | | | | |
| 下半身 MMT 得分 | | | | |
| n | N/A | N/A | N/A | N/A |
| CFBL 平均值（SD） | N/A | N/A | N/A | N/A |
| 上半身 MMT 得分 | | | | |
| n | 4 | 4 | 4 | N/A |
| CFBL 平均值（SD） | 1.3 (3.40) | 2.0 (6.63) | -0.8（10.72） | N/A |
| MMT 總得分 | | | | |
| n | 4 | 4 | 4 | N/A |
| CFBL 平均值（SD） | 1.3 (3.40) | 2.0 (6.63) | -0.8（10.72） | N/A |
| **患者報告的結果** | | | | |
| 拉施（Rasch）建立的龐貝氏-比活性 | | | | |
| n | | | | |
| CFBL 平均值（SD） | 5 | 4 | 4 | 2 |
| | 1.4 (1.95) | 0.8 (0.96) | 0.8 (0.96) | 2.0 (4.24) |
| 鹿特丹障礙（Rotterdam Handicap）度量 | | | | |
| n | 4 | 4 | 4 | 2 |
| CFBL平均值（SD） | 0.6 (3.15) | 0.6 (4.66) | 0.6 (1.67) | -1.5（4.95） |
| 疲勞嚴重性度量 | | | | |
| n | 5 | 5 | 5 | 2 |
| CFBL平均值（SD） | -9.2（11.37） | -23.0（17.78） | -10.0（9.35） | -12.0（15.56） |
| **生物標誌物** | | | | |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 血清肌酸激酶，U/L<br>n<br>% CFBL平均值（SD） | <br>5<br>-20.8（8.84） | <br>5<br>-25.3（16.83） | <br>4<br>-27.1（32.43） | <br>2<br>-23.7（23.90） |
| 尿 Hex4，mmol/mol 肌酸<br>n<br>% CFBL 平均值（SD） | <br>5<br>-15.6（16.67） | <br>5<br>-34.1（14.08） | <br>4<br>-36.5（23.13） | <br>2<br>-9.4（1.71） |

**[表26C]：48個月跟蹤時受試者和醫生對變化的總體印象的總結**

| | **能行走經歷過ERT** | | **不能行走的經歷過ERT的** | **能行走ERT初治** |
|---|---|---|---|---|
| | **佇列1**<br>**N = 7** | **佇列4**<br>**N = 6** | **佇列2**<br>**N = 5** | **佇列3**<br>**N = 6** |
| **SGIC；總體身體健康** | | | | |
| 改善，n（%） | 6 (85.7) | 4 (66.7) | 3 (60.0) | 5 (83.3) |
| 沒有變化，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) |
| 沒有變化，n（%） | 3 (42.9) | 4 (66.7) | 2 (40.0) | 0 (0) |
| 衰退，n（%） | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |

**實例19：研究ATB200-03**

【0508】 研究ATB200-03係臨床計畫中的關鍵3期研究，西帕葡糖苷酶α/麥格司他的功效主要基於該研究的主要和關鍵次要功效結果的總結。

【0509】 共有123名受試者被隨機分配和給藥（95名經歷過ERT，28名ERT初治），117名受試者在24個國家/地區的62個網站完成了研究（有6名停藥，經歷過ERT的群體）。接受西帕葡糖苷酶α/麥格司他和阿葡糖苷酶α/安慰劑治療的受試者的平均（SD）暴露持續時間相似（分別為11.8（1.80）個月和12.0（0.71）個月），最長持續時間分別為14.8個月和12.9個月。退出率非常低，所有117名完成研究的受試者隨後都參加了開放標籤擴展研究ATB200-07。

【0510】 基線群體統計特徵代表了群體，並且在西帕葡糖苷酶α/麥格司他

和阿葡糖苷酶α/安慰劑治療組之間通常相似。大多數受試者（95 [77.2%]）經歷過ERT，平均（SD）ERT治療持續時間為7.4（3.45）年。受試者之前接受的ERT在西帕葡糖苷酶α/麥格司他組中為平均7.5年和在阿葡糖苷酶α/安慰劑組中為平均7.1年。

【0511】基線6MWD和FVC，以及MMT和GSGC得分代表了群體，並且在治療組中通常相似。對於為西帕葡糖苷酶α/麥格司他和阿葡糖苷酶α/安慰劑組的受試者，基線6MWD平均值（SD）分別為357.9（111.84）米和350.1（119.78）米。在每個治療組中，與經歷過ERT的受試者相比，ERT初治治療的受試者的基線6MWD和FVC均更高（表27）。

**[表27]：基線6MWD和預測FVC %-研究ATB200-03**

| **終點** | **西帕葡糖苷酶α/麥格司他** | | **阿葡糖苷酶α** | |
|---|---|---|---|---|
| **6MWD，m** | **（N = 85）** | | **（N = 38）** | |
| 均數（SD） | 357.93 (111.843) | | 350.14 (119.776) | |
| 中值（min，max） | 359.50 (79.0, 575.0) | | 358.45 (112.5, 623.0) | |
| | **經歷過ERT** | **ERT初治** | **經歷過ERT** | **ERT初治** |
| n | 65 | 20 | 30 | 8 |
| 均數（SD） | 346.94 (110.213) | 393.64 (112.388) | 334.62 (114.023) | 408.34 (130.628) |
| 中值（min，max） | 352.50<br>（79.0，557.5） | 375.15<br>（154.0，575.0） | 343.50<br>（112.5，532.3） | 384.25<br>（201.0，623.0） |
| **預測FVC %，坐姿** | **N = 85** | | **N = 38** | |
| 均數（SD） | 70.74 (19.573) | | 70.04 (21.301) | |
| 中值（min，max） | 70.00 (30.5, 132.5) | | 71.25 (31.5, 122.0) | |
| | **經歷過ERT** | **ERT初治** | **經歷過ERT** | **ERT初治** |
| n | 65 | 20 | 30 | 8 |
| 均數（SD） | 67.85 (19.052) | 80.15 (18.689) | 67.48 (20.993) | 79.63 (20.962) |
| 中值（min，max） | 68.00<br>（30.5，132.5） | 82.25<br>（48.0，111.0） | 69.00<br>（31.5，122.0） | 88.50<br>（46.5，98.0） |

縮寫：6MWD = 6分鐘步行距離；ERT = 酶替代療法；FVC = 用力肺活量；max = 最大值；min = 最小值；N = 每個群體中的受試者數量；n = 在基線時分析的受

試者數量；SD = 標準差

【0512】 主要終點的檢驗首先在1側0.025的顯著性水平下進行，如果顯著，則在相同的顯著性水平上對有序的關鍵次要終點進行類似的檢驗。關鍵次要終點的統計顯著性按照分層測試順序進行解釋，每個終點的1側α水平為0.025。如果在任何時候零假設未能被拒絕，那麼該比較和它下面的任何其他比較都不能聲稱在優勢方面具有統計顯著性，並且隨後的分析將評估名義上的優勢顯著性。使用重複測量混合效應模型（MMRM）針對意向治療觀察群體（ITT）的6MWD進行功效初步分析，該ITT包括所有可用的觀察數據，無任何缺失數據插補（ITT-OBS），以及針對意向治療-末次觀察推進法（ITT-LOCF）群體的所有其他終點進行的方差分析（ANCOVA）。基於非參數隨機化的ANCOVA被指定為6MWD和FVC的第一個敏感性分析。如果主要參數分析未能滿足正態性假設，則將正式進行此非參數分析。出於本文檔中數據呈現的目的，除非另有說明，否則在下文中報告了2側p值。

【0513】 表28總結了包括經歷過的ERT和ERT初治的受試者在內的總體ITT群體的主要終點和6個關鍵次要終點的結果。與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比，西帕葡糖苷酶α/麥格司他的6MWD顯示出更大的改善，但未達到優於批准的治療的統計學優勢顯著性（p = 0.608）。在預測的FVC %方面，西帕葡糖苷酶α/麥格司他在總體ITT群體中顯示出與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比具有名義統計學顯著性（p = 0.048）和有臨床意義的優勢差異。

【0514】 相比於阿葡糖苷酶α/安慰劑，運動功能、肺功能、肌肉力量和PRO等其他關鍵次要終點的結果在數值上有利於西帕葡糖苷酶α/麥格司他，GSGC也在優勢方面顯示出名義上的統計學顯著性。

**[表28]：主要和關鍵次要終點（ITT群體）的結果總結—研究ATB200-03**

| 水平<br>終點 | 用於分析西帕葡糖苷酶α/麥格司他的觀察數量 | 用於分析阿葡糖苷酶α/安慰劑的觀察數量 | LS平均治療差異（SE）[a] | 差異的95% CI | 2側<br>p值 |
|---|---|---|---|---|---|
| 主要終點[b] | | | | | |
| CHG至第52週，6MWD（米） | 81 | 37 | 5.33 (10.367) | （-15.21，25.88） | 0.608 |
| 第一個關鍵次要終點[c] | | | | | |
| CHG到第52週，預測坐姿FVC % | 84 | 38 | 2.32 (1.162) | （0.02，4.62） | 0.048 |
| 另外的關鍵次要終點 | | | | | |
| CHG至第52週，MMT下肢得分 | 80 | 35 | 0.99 (0.716) | （-0.43，2.41） | 0.168 |
| CHG至第26週，6MWD（米） | 85 | 38 | 5.46 (6.484) | （-7.39，18.30） | 0.402 |

**[表28]：主要和關鍵次要終點（ITT群體）的結果總結—研究ATB200-03（續）**

| 水平<br>終點 | 用於分析西帕葡糖苷酶α/麥格司他的觀察數量 | 用於分析阿葡糖苷酶α/安慰劑的觀察數量 | LS平均治療差異（SE）[a] | 差異的95% CI | 2側<br>p值 |
|---|---|---|---|---|---|
| CHG至第52週，PROMIS-身體功能總得分[d] | 84 | 38 | 1.37 (1.714) | （-2.03，4.77） | 0.426 |
| CHG至第52週，PROMIS-疲勞總得分[d] | 85 | 38 | 0.13 (1.079) | （-2.00，2.27） | 0.903 |
| CHG至第52週，GSGC總得分 | 72 | 31 | -1.30（0.524） | （-2.34，-0.26） | 0.015 |

縮寫：6MWD = 6分鐘步行距離；ANCOVA = 協方差分析；CHG = 相對於基線的變化；CI = 置信區間；FVC = 用力肺活量；GSGC = 步態、樓梯、高爾斯動作和椅子測試；ITT = 意向治療；ITT-OBS = 意向治療群體，包括第52週時所有可用的觀察數據，沒有任何缺失數據插補；LOCF = 末次觀察推進法；LS = 最小二乘法；MMRM = 混合效應模型重複測量；MMT = 徒手肌力測試；PROMIS = 患者報告的結果測量資訊系統；SE = 標準誤差

[a] 西帕葡糖苷酶α/麥格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰劑。

[b] MMRM方法用於基於ITT-OBS群體的主要終點的主要分析。

[c] ANCOVA模型用於基於ITT-LOCF群體的關鍵次要終點的主要分析。

[d] 總得分係藉由將所有項目的得分（1到5）相加計算得出的。

【0515】 應該注意的是，受試者4005-2511（ERT初治受試者）在比較組中存在異常數據點，結果證明這係非常有影響力的離群值，並且扭曲了根據原始數據計算出的平均變化估計值。僅來自這1名受試者的數據點就占了比較組（即阿葡糖苷酶α/安慰劑）第52週時相對於基線的平均變化的約56%，並將比較組中的方差擴大西帕葡糖苷酶α/麥格司他組的約6倍。

【0516】 對總體ITT群體的6MWD進行了預設的離群值排除分析，該分析排除了外部學生化殘差 > 3的離群值，並且用西帕葡糖苷酶α/麥格司他組治療的受試者比阿葡糖苷酶α/安慰劑組的受試者平均多走了14米（p = 0.100）（表29）。該等結果與排除了受試者4005-2511的總體ITT群體的結果一致。

**[表29]：主要終點的敏感性分析：第52週時6MWD（米）相對於基線的變化的ANCOVA（ITT-LOCF群體，排除具有外部學生化殘差的離群值 > 3）—研究ATB200-03**

| | **西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 85）** | **阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 37）** |
|---|---|---|
| ANCOVA的參數估計和比較[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）的差異（西帕葡糖苷酶α/麥格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰劑） | | 13.96 (8.421) |
| 差異的95% CI | | （-2.72，30.64） |
| 2側p值 | | 0.100 |

縮寫：6MWD = 6分鐘步行距離；ANCOVA = 協方差分析；CI = 置信區間；ERT = 酶替代療法；ITT-LOCF = 意向治療—末次觀察推進法；LS = 最小二乘法；N = 每個治療組中的受試者數量；n = 具有可用數據的受試者數量；SE = 標準誤差

注意：ANCOVA基於ITT-LOCF，排除了在大小上外部學生化殘差> 3的離群值（絕對值）。

[a] 所有估計值均來自ANCOVA模型，包括以下項：治療、基線6MWD、年齡、身高、體重（均為連續協變數）、ERT狀態（ERT初治相比於經歷過ERT）和性別。

【0517】 檢查了6MWD的MMRM分析的假設，包括正態性假設。根據對診斷圖和Shapiro-Wilk檢驗的檢查，明顯違反了MMRM分析的正態性假設（Shapiro-Wilk檢驗$p < 0.01$）。因此，按照規定進行了基於非參數隨機化的協方差分析，以更好地估計治療效果。基於非參數隨機化的協方差分析的最小二乘（LS）平均治療差異（95%置信區間[CI]）為6.61（-15.12，28.35），p值為0.551。

【0518】 為了支持西帕葡糖苷酶α/麥格司他對6MWD和預測FVC %（這兩個係龐貝氏病患者的重要疾病領域）的主要和關鍵次要終點的治療效果的臨床意義和一致性，進行了事後全域測試（表30）。該全域測試係藉由以下方式進行的：將個別受試者分別對這2個相同終點中的每一個終點的反應按從最小改善到最大改善的順序進行排序，將每個受試者的2個排序相加，並使用Wilcoxon秩和檢驗分析相加後的排序，以評估西帕葡糖苷酶α/麥格司他相對於阿葡糖苷酶α/安慰劑的優勢。全域測試顯示，與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比，接受西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療的患者的6MWD或FVC有更大改善（$p = 0.022$）。此全域測試支持在所研究的總體ITT群體中分別在該等終點中的每一個上觀察到的結果。

**[表30] :基於6MWD和FVC（ITT群體）秩和的Wilcoxon秩和檢驗-研究ATB200-03**

| 治療 | N | 得分的加和 | 平均得分 | 統計 | Z-統計 | 2側 p值[a] |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 阿葡糖苷酶α/安慰劑 | 38 | 1915.5 | 50.4 | 1916 | -2.3 | 0.022 |
| 西帕葡糖苷酶α/麥格司他 | 84[b] | 5587.5 | 66.5 | | | |

縮寫：6MWD = 6分鐘步行距離；FVC = 用力肺活量；ITT = 意向治療；N = 受試者數量

注意：該全域測試係藉由以下方式進行的：將個別受試者分別對每個終點的反應（即，從基線到第52週的變化）按從最小改善到最大改善的順序進行排序，將每個受試者的2個排序相加，並使用Wilcoxon秩和檢驗分析相加後的排序。

[a] P值來自使用t近似的Wilcoxon 2樣本檢驗。

[b] 對於預測FVC %（N = 84），受試者2301-1421的基線結果為70.5%，但隨後由於不想前往網站而退出研究，因此被排除在分析之外。

【0519】 數據庫鎖定後，與主要研究者的討論顯示，受試者4005-2511在篩選時故意在6MWD和肺功能測試中表現不佳，以確保他符合納入標準並進入研究。進行了排除離群數據點的預先指定的敏感性分析，該分析排除了該受試者的數據點。鑒於該受試者承認其篩選測試表現不佳，其臨床結果不可信，並且預設的離群值敏感性分析表明與包含該受試者的ITT分析存在實質性差異，因此對ITT群體的所有功效分析均在有或沒有該離群值受試者的情況下進行。包括在總體群體和ERT初治群體中的該受試者的詳細資訊以及該受試者的二次分析結果可在研究ATB200-03 CSR中找到。應該指出的是，離群值受試者係在ERT初治群體中。因此，對經歷過ERT的群體的分析結果沒有受到影響。

**主要終點：6MWD**

【0520】 在研究ATB200-03中，6MWD（米）從基線到第52週的平均（SD）變化顯示，與阿葡糖苷酶α/安慰劑組的8.0（40.56）米相比，西帕葡糖苷酶α/麥格司他組平均改善了20.6（42.27）米。因此，用西帕葡糖苷酶α治療的受試者在

6MWD中隨著時間的推移表現出改善，直至52週。與總體ITT群體相似，即使在排除離群值之後，基於診斷圖和Shapiro-Wilk檢驗（Shapiro-Wilk檢驗p值< 0.01）的檢查，MMRM分析的正態性假設也被違反。因此，基於ANCOVA的非參數分析係在包括離群值在內的總體ITT群體中進行的。

【0521】 基於非參數隨機化的協方差分析的LS平均治療差異（95% CI）為13.66（-1.17，28.48），p值為0.071。

【0522】 表31總結了對經歷過ERT的群體藉由就診（ITT群體）和MMRM分析（ITT-OBS群體）的6MWD（米）平均變化。表31還總結了ITT-LOCF群體中受試者在第52週時6MWD變化的基於非參數隨機化的協方差分析。圖23B顯示了藉由就診匯總統計的線圖。

**[表31]：藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和MMRM分析（ITT-OBS群體，不包括受試者4005-2511）的6MWD（米）變化總結-研究ATB200-03**

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 85） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 37） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| 基線[a] | | | | |
| n | 85 | -- | 37 | -- |
| 均數（SD） | 357.93 (111.843) | -- | 350.95 (121.322) | -- |
| 中位數（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週-觀察 | | | | |
| n | 81 | 81 | 36 | 36 |
| 均數（SD） | 376.41 (122.925) | 20.56 (42.266) | 359.70 (137.361) | 8.02 (40.564) |
| 中位數（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週-LOCF | | | | |
| n | 85 | 85 | 37 | 37 |

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 85） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 37） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| 均數（SD） | 378.72 (123.348) | 20.79 (42.773) | 358.19 (135.750) | 7.24 (40.277) |
| 中位數（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週時的MMRM參數估計和比較[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平均值的差異（SE）（西帕葡糖苷酶α/麥格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰劑） | | | 14.21 (8.481) | |
| 差異的95% CI | | | （-2.60，31.02） | |
| 2側p值 | | | 0.097 | |
| 來自非參數ANCOVA的參數估計和比較[c] | | | | |
| LS平均值（SE）的差異（西帕葡糖苷酶α - 阿葡糖苷酶α/安慰劑） | | | 13.66 (7.564) | |
| 差異的95% CI | | | （-1.17，28.48） | |
| 2側p值 | | | 0.071 | |

縮寫：6MWD = 6分鐘步行距離；ANCOVA = 協方差分析；CHG = 相對於基線的變化；CI = 置信區間；ERT = 酶替代療法；ITT = 意向治療；ITT-OBS = 意向治療群體，包括第52週時所有可用的觀察數據，沒有任何缺失數據插補；LOCF = 末次觀察推進法；LS = 最小二乘法；max = 最大值；min = 最小值；MMRM = 用於重複測量的混合效應模型；N = 每個治療組中的受試者數量；n = 具有可用數據的受試者數量；Q1 = 第一四分位數；Q3 = 第三四分位數；SD = 標準差；SE = 標準誤差

[a] 基線係在第一次給藥日期時或之前獲得的最後2個值的平均值。

[b] MMRM方法（使用受限最大似然估計）用於分析。該模型包括以下項：治

療、基線6MWD、年齡、身高、體重（均為連續協變數）、ERT狀態（ERT初治相比於經歷過ERT）、性別、時間和治療時間相互作用。時間被用作重複測量，並應用了非結構化協方差方法。

[c] 治療組之間的非參數ANCOVA比較，針對基線6MWD、年齡、身高、體重（均為連續協變數）、作為分層的ERT狀態（ERT初治相比於經歷過ERT）和性別進行調整。

**次要終點：預測坐姿FVC %**

【0523】 第一個關鍵次要終點係預測坐姿FVC %。在FVC方面，西帕葡糖苷酶α/麥格司他在總體群體中表現出名義上統計學上顯著的改善，並且與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比具有臨床意義的優勢差異（p = 0.023）。西帕葡糖苷酶α/麥格司他顯著減緩了用西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療的受試者的呼吸衰退速率，52週後該等受試者表現出0.9%的絕對衰退，而用阿葡糖苷酶α/安慰劑治療的受試者表現出4.0%的絕對衰退。

【0524】 表32總結了從基線到第52週藉由就診（ITT群體）的FVC平均變化和ANCOVA模型（對於正態分佈數據）。圖23B顯示了藉由就診匯總統計的線圖。

**[表32]：藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和ANCOVA模型（ITT-LOCF群體）的預測坐姿FVC %變化總結-不包括受試者4005-2511-研究ATB200-03**

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 85） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 37） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| 基線[a] | | | | |
| n | 85 | | 37 | |
| 均數（SD） | 70.74 (19.573) | | 69.68 (21.475) | |
| 中位數（Q1，Q3） | 70.00 (56.00, 84.00) | | 71.00 (50.00, 89.00) | |

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 85） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 37） | |
|---|---|---|---|---|
| | **絕對值** | **CHG** | **絕對值** | **CHG** |
| Min，max | 30.5, 132.5 | | 31.5, 122.0 | |
| 第52週-LOCF | | | | |
| n | 84[b] | 84 | 37 | 37 |
| 均數（SD） | 69.81 (19.861) | -0.93（6.231） | 65.73 (21.109) | -3.95（4.892） |
| 中位數（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週的ANCOVA參數估計和比較[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平均值的差異（SE）（西帕葡糖苷酶α/麥格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰劑） | | | 2.66 (1.156) | |
| 差異的95% CI | | | （0.37，4.95） | |
| 2側p值 | | | 0.023 | |

縮寫：ANCOVA = 協方差分析；CHG = 相對於基線的變化；CI = 置信區間；ERT = 酶替代療法；FVC = 用力肺活量；ITT = 意向治療；LOCF = 末次觀察推進法；LS = 最小二乘法；max = 最大值；min = 最小值；N = 每個治療組中的受試者數量；n = 具有可用數據的受試者數量；Q1 = 第一四分位數；Q3 = 第三四分位數；SD = 標準差；SE = 標準誤差

[a] 基線係在第一次給藥日期時或之前獲得的最後2個值的平均值。

[b] 對於預測FVC %（N = 84），受試者2301-1421的基線結果為70.5%，但隨後由於不想前往網站而退出研究，因此被排除在分析之外。

[c] 所有估計值均根據觀察到的數據從ANCOVA模型中獲得，包括以下項：治療、基線預測坐姿FVC %、年齡、身高、體重（均為連續協變數）、ERT狀態（ERT初治相比於經歷過ERT）和性別

【0525】 還對6MWD和FVC的主要和關鍵次要終點進行了全域測試，不包括離群值受試者（表33）。該事後檢驗的結果進一步支持了西帕葡糖苷酶α/麥格司他對總體ITT群體中6MWD和FVC的治療效果的顯著性和一致性。

**[表33]：基於6MWD和預測FVC %（不包括受試者4005-2511）秩和的Wilcoxon秩和檢驗-研究ATB200-03**

| 治療 | N | 得分的加和 | 平均得分 | 統計 | Z-統計 | 2側 p值[a] |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 阿葡糖苷酶α/安慰劑 | 37 | 1793.5 | 48.5 | 1794 | -2.6 | 0.010 |
| 西帕葡糖苷酶α/麥格司他 | 84[b] | 5587.5 | 66.5 | | | |

縮寫：6MWD = 6分鐘步行距離；FVC = 用力肺活量；N = 每個治療組中的受試者數量；n = 具有可用數據的受試者數量

注意：該全域測試係藉由以下方式進行的：將個別受試者分別對每個終點的反應（即，從基線到第52週的變化）按從最小改善到最大改善的順序進行排序，將每個受試者的2個排序相加，並使用Wilcoxon秩和檢驗分析相加後的排序。

[a] P值來自使用t近似的Wilcoxon 2樣本檢驗。

[b] 對於預測FVC %（N = 84），受試者2301-1421的基線結果為70.5%，但隨後由於不想前往網站而退出研究，因此被排除在分析之外。

**MMT下肢得分**

【0526】 在研究ATB200-03中，從基線到第52週，MMT下肢得分的平均（SD）變化顯示，西帕葡糖苷酶α/麥格司他組的數值改善為1.6（3.78），而阿葡糖苷酶α/安慰劑組的數值改善為0.9（2.58），儘管在肌肉力量評估方面並未取得統計學優勢（p = 0.191）。

【0527】 表34總結了藉由從基線到第52週（ITT群體）就診和ANCOVA模型（ITT-LOCF群體）的MMT下肢得分的變化。圖28顯示了藉由就診匯總統計的線圖。

**[表34]：藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和ANCOVA模型（ITT-LOCF群體）的MMT下肢得分變化總結-不包括受試者4005-2511-研究ATB200-03**

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 85） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 37） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| 基線[a] | | | | |
| n | 84 | | 34 | |
| 均數（SD） | 27.96 (5.757) | | 27.65 (6.169) | |
| 中位數（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週-LOCF | | | | |
| n | 80 | 80 | 34 | 34 |
| 均數（SD） | 29.73 (6.042) | 1.56 (3.783) | 28.53 (6.999) | 0.88 (2.579) |
| 中位數（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的參數估計和比較[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平均值的差異（SE）（西帕葡糖苷酶α/麥格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰劑） | | | 0.96 (0.727) | |
| 差異的95% CI | | | （-0.48，2.40） | |
| 2側p值 | | | 0.191 | |

縮寫：ANCOVA = 協方差分析；CHG = 相對於基線的變化；CI = 置信區間；ERT = 酶替代療法；ITT = 意向治療；LOCF = 末次觀察推進法；LS = 最小二乘法；max = 最大值；min = 最小值；MMT = 徒手肌力測試；N = 每個治療組中的受試者數量；n = 具有可用數據的受試者數量；Q1 = 第一四分位數；Q3 = 第三四分位數；SD = 標準差；SE = 標準誤差

注意：MMT下肢力量總得分包括以下8個身體部位：右/左髖關節屈曲、右/左髖關節外展、右/左膝關節屈曲和右/左膝關節伸展。MMT得分範圍為0到40，得分

越低表示肌肉力量越弱。

[a] 基線係研究藥物首個劑量投與前的最後一個非缺失值。

[b] 所有估計值均來自ANCOVA模型，包括以下項：治療、基線MMT下肢得分、年齡、身高、體重（均為連續協變數）、ERT狀態（ERT初治相比於經歷過ERT）和性別。

**第26週時6MWD**

【0528】 第26週的結果與第52週的結果基本一致。對於ANCOVA模型，LS平均治療差異（95% CI）為8.17（-4.24，20.57）米，p值為0.195。

**PROMIS-身體功能**

【0529】 在研究ATB200-03中，PROMIS-身體功能總得分從基線到第52週的平均（SD）變化顯示，與阿葡糖苷酶α/安慰劑組的0.2（10.82）相比，西帕葡糖苷酶α/麥格司他組平均改善了1.9（7.50）。PROMIS-身體功能顯示，與接受阿葡糖苷酶α/安慰劑治療的受試者相比，接受西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療的受試者在數值上有更大的改善，但該等改善並未達到統計學優勢（p = 0.276）。

【0530】 表35總結了藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和ANCOVA模型（ITT-LOCF群體）的PROMIS-身體功能簡表20a總得分平均變化，不包括受試者4005-2511。圖30顯示了藉由就診匯總統計的線圖。

**[表35]：藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和ANCOVA模型（ITT-LOCF群體）的PROMIS-身體功能簡表20a變化總結-不包括受試者4005-2511-研究ATB200-03**

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 85） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 37） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| 基線[a] | | | | |
| n | 84 | | 37 | |

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 85） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 37） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| 均數（SD） | 66.86 (12.261) | | 67.97 (13.090) | |
| 中位數（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週-LOCF | | | | |
| n | 84 | 84 | 37 | 37 |
| 均數（SD） | 68.80 (12.954) | 1.94 (7.498) | 68.16 (16.269) | 0.19 (10.819) |
| 中位數（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週時的ANCOVA參數估計和比較[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平均值的差異（SE）（西帕葡糖苷酶α/麥格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰劑） | | | 1.87 (1.706) | |
| 差異的95% CI | | | （-1.51，5.25） | |
| 2側p值 | | | 0.276 | |

縮寫：ANCOVA = 協方差分析；CI = 置信區間；CHG = 相對於基線的變化；ERT = 酶替代療法；ITT = 意向治療；LOCF = 末次觀察推進法；LS = 最小二乘法；max = 最大值；min = 最小值；N = 每個治療組中的受試者數量；n = 具有可用數據的受試者數量；PROMIS = 患者報告的結果測量資訊系統；Q1 = 第一四分位數；Q3 = 第三四分位數；SD = 標準差；SE = 標準誤差

注意：總得分範圍為20至100，得分越高表示對身體功能的影響越小。

[a] 基線係研究藥物首個劑量投與前的最後一個非缺失值。

[b] 所有估計值均來自ANCOVA模型，包括以下項：治療、基線PROMIS-身體功能總得分、年齡、身高、體重（均為連續協變數）、ERT狀態（ERT初治相比於經歷過ERT）和性別。

**PROMIS-疲勞**

【0531】 PROMIS-疲勞總得分從基線到第52週的平均（SD）變化顯示，與阿葡糖苷酶α/安慰劑組的-1.9（0.90）相比，西帕葡糖苷酶α/麥格司他組平均改善了-1.9（0.59）。PROMIS-疲勞在接受西帕葡糖苷酶α/麥格司他和阿葡糖苷酶α/安慰劑治療的受試者之間顯示出相似的改善（p = 0.970）。

【0532】 表36總結了對於ITT群體（不包括受試者4005-2511）藉由就診（ITT群體）和ANCOVA模型（ITT-LOCF群體）的PROMIS-疲勞總得分從基線到第52週的平均變化。圖31顯示了藉由就診匯總統計的線圖。

**[表36]：藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和ANCOVA模型總得分（ITT-LOCF群體）的PROMIS-疲勞簡表8a變化總結-不包括受試者4005-2511-研究ATB200-03**

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 85） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 37） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| 基線[a] | | | | |
| n | 85 | | 37 | |
| 均數（SD） | 22.26 (8.304) | | 21.08 (6.098) | |
| 中位數（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週-LOCF | | | | |
| n | 85 | 85 | 37 | 37 |
| 均數（SD） | 20.24 (7.492) | -2.02（5.763） | 19.41 (6.735) | -1.67（6.623） |
| 中位數（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的參數估計和比較[b] | | | | |
| n | 85 | | 37 | |
| 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） | |

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 85） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 37） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| LS平均值的差異（SE）（西帕葡糖苷酶α/麥格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰劑） | | | 0.04 (1.092) | |
| 差異的95% CI | | | （-2.12，2.20） | |
| 2側p值 | | | 0.970 | |

縮寫：ANCOVA = 協方差分析；CHG = 相對於基線的變化；CI = 置信區間；ERT = 酶替代療法；ITT = 意向治療；LOCF = 末次觀察推進法；LS = 最小二乘法；max = 最大值；min = 最小值；N = 每個治療組中的受試者數量；n = 具有可用數據的受試者數量；PROMIS = 患者報告的結果測量資訊系統；Q1 = 第一四分位數；Q3 = 第三四分位數；SD = 標準差；SE = 標準誤差

注意：如果基線後得分部分缺失但≥ 50%的項可用，則總得分計算為非缺失項的平均值乘以預期的項總數。

注意：總得分在8到40之間，得分越低表示疲勞影響越小，它係藉由將所有8個項的得分（1到5）相加計算得出的。

[a] 基線係研究藥物首個劑量投與前的最後一個非缺失值。

[b] 所有估計值均來自ANCOVA模型，包括以下項：治療、基線PROMIS-疲勞總得分、年齡、身高、體重（均為連續協變數）、ERT狀態（ERT初治相比於經歷過ERT）和性別。

**GSGC**

【0533】 在研究ATB200-03中，GSGC總得分從基線到第52週的平均（SD）變化顯示，與阿葡糖苷酶α/安慰劑組的0.77（1.81）相比，西帕葡糖苷酶α/麥格司他組平均改善了-0.53（2.54）。在總體群體中，與阿葡糖苷酶α相比，GSGC在使用西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療後表現出名義上的顯著改善，p值為0.009。

【0534】 表37總結了對於ITT群體（不包括受試者4005-2511）藉由就診

（ITT群體）和ANCOVA模型（ITT-LOCF群體）的GSGC總得分從基線到第52週的平均變化。圖29顯示了藉由就診匯總統計的線圖。

**[表37]：藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和ANCOVA模型（ITT-LOCF群體）的GSGC總得分變化總結-不包括受試者4005-2511-研究ATB200-03**

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 85） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 37） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| 基線[a] | | | | |
| n | 74 | | 32 | |
| 均數（SD） | 14.51 (5.171) | | 14.50 (4.718) | |
| 中位數（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週-LOCF | | | | |
| n | 72 | 72 | 30 | 30 |
| 均數（SD） | 13.74 (5.371) | -0.53（2.542） | 15.00 (4.488) | 0.77 (1.813) |
| 中位數（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的參數估計和比較[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平均值的差異（SE）（西帕葡糖苷酶α/麥格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰劑） | | | -1.414（0.528） | |
| 差異的95% CI | | | （-2.463，-0.364） | |
| 2側p值 | | | 0.009 | |

縮寫：ANCOVA = 協方差分析；CHG = 相對於基線的變化；CI = 置信區間；ERT = 酶替代療法；GSGC = 步態、樓梯、高爾斯動作和椅子測試；ITT = 意向治療；LOCF = 末次觀察推進法；LS = 最小二乘法；max = 最大值；min = 最小值；N = 每個治療組中的受試者數量；n = 具有可用數據的受試者數量；Q1 = 第一四分位數；Q3 = 第三四分位數；SD = 標準差；SE = 標準誤差

注意：步態得分基於10米步行測試；樓梯得分基於受試者爬樓梯；高爾斯動作得分基於受試者躺在地板上，然後從地板上站起來達到站立位置；椅子得分基於受試者從椅子上的坐姿到站姿。

注意：GSGC總得分係4項測試的加和，範圍從最低4分（正常表現）到最高27分（最差得分）。

注意：LS平均值和SE係從ANCOVA模型獲得的。

[a] 基線係研究藥物首個劑量投與前的最後一個非缺失值。

[b] 所有估計值均來自ANCOVA模型，包括以下項：治療、基線GSGC總得分、年齡、身高、體重（均為連續協變數）、ERT狀態（ERT初治相比於經歷過ERT）和性別。

【0535】 在排除受試者4005-2511的ITT群體中，與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比，從基線到第52週的GSGC的計時成分的絕對值明顯有利於西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療。

**經歷過ERT的群體**

【0536】 應該指出的是，離群值受試者（受試者4005-2511）係在ERT初治群體中。因此，對經歷過ERT的群體的結果沒有受到影響。

**主要終點：第52週時6MWD**

【0537】 在經歷過ERT的群體（n = 95）中，6MWD（米）從基線到第52週的平均（SD）變化顯示，與阿葡糖苷酶α/安慰劑組的0.7（39.84）米相比，西帕葡糖苷酶α/麥格司他組平均改善了16.3（39.46）米。因此，用西帕葡糖苷酶α治療的經歷過ERT的受試者在6MWD中隨著時間的推移表現出改善，直至52週。

【0538】 對於使用受限最大似然估計的MMRM分析，LS平均治療差異（95% CI）為16.45%（-1.86，34.77），名義上的p值為0.078（表38）。

【0539】 與排除離群值的ITT群體類似，基於診斷圖和Shapiro-Wilk檢驗

（Shapiro-Wilk檢驗p值 < 0.01）的檢查，MMRM分析的正態性假設也被違反。因此，基於非參數隨機化的ANCOVA按預先計畫進行，其產生的名義上的p值為0.047。圖25顯示了藉由就診匯總統計的線圖。

**[表38]：藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和MMRM分析（ITT-OBS群體）的6MWD（米）變化總結-經歷過ERT的群體-研究ATB200-03**

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 65） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 30） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| 基線[a] | | | | |
| n | 65 | | 30 | |
| 均數（SD） | 346.94 (110.213) | | 334.62 (114.023) | |
| 中位數（Q1，Q3） | 352.50<br>（294.50，403.00） | | 343.50<br>（260.60，420.00） | |
| Min，max | 79.0, 557.5 | | 112.5, 532.3 | |
| 第52週-觀察 | | | | |
| n | 61 | 61 | 29 | 29 |
| 均數（SD） | 359.79 (122.494) | 16.34 (39.462) | 335.66 (131.666) | 0.70 (39.841) |
| 中位數（Q1，Q3） | 360.50<br>（296.00，428.00） | 9.65<br>（-7.90，41.00） | 348.00<br>（250.40，438.60） | -8.65<br>（-24.40，17.35） |
| Min，max | 79.6, 601.5 | -57.1, 173.5 | 67.0, 576.0 | -55.6, 127.0 |
| 第52週-LOCF | | | | |
| n | 65 | 65 | 30 | 30 |
| 均數（SD） | 363.83 (123.522) | 16.89 (40.393) | 334.60 (129.506) | -0.02（39.345） |
| 中位數（Q1，Q3） | 363.50<br>（296.00，435.00） | 9.65<br>（-7.90，41.00） | 339.03<br>（250.40，438.60） | -8.93<br>（-24.40，17.35） |
| Min，max | 79.6, 601.5 | -57.1, 173.5 | 67.0, 576.0 | -55.6, 127.0 |
| MMRM的參數估計和比較[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平均值的差異（SE）（西帕葡糖苷酶α/麥格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰劑） | | | 16.45 (9.209) | |

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 65） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 30） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| 差異的95% CI | | | （-1.86，34.77） | |
| 2側p值 | | | 0.078 | |
| 來自非參數ANCOVA的參數估計和比較[c] | | | | |
| LS平均值（SE）的差異（西帕葡糖苷酶α - 阿葡糖苷酶α/安慰劑） | | | 16.76 (8.433) | |
| 差異的95% CI | | | （0.24，33.29） | |
| 2側p值 | | | 0.047 | |

縮寫：6MWD = 6分鐘步行距離；ANCOVA = 協方差分析；CHG = 相對於基線的變化；CI = 置信區間；ERT = 酶替代療法；ITT = 意向治療；ITT-OBS = 意向治療群體，包括第52週時所有可用的觀察數據，沒有任何缺失數據插補；LOCF = 末次觀察推進法；LS = 最小二乘法；max = 最大值；min = 最小值；MMRM = 用於重複測量的混合效應模型；N = 每個治療組中的受試者數量；n = 具有可用數據的受試者數量；Q1 = 第一四分位數；Q3 = 第三四分位數；SD = 標準差；SE = 標準誤差

[a] 基線係在第一次給藥日期時或之前獲得的最後2個值的平均值。

[b] MMRM方法（使用受限最大似然估計）用於分析。該模型包括以下項：治療、基線6MWD、年齡、身高、體重（均為連續協變數）、性別、時間和治療時間相互作用。時間被用作重複測量，並應用了非結構化協方差方法。

[c] 治療組之間的非參數ANCOVA比較，針對基線6MWD、年齡、身高、體重（均為連續協變數）和性別進行調整。

**預測坐姿FVC %**

【0540】在經歷過ERT的亞組中，西帕葡糖苷酶α/麥格司他表現出名義上統計學上顯著的改善，並且與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比具有臨床意義的優勢差異（p = 0.006）。西帕葡糖苷酶α/麥格司他略微改善了用西帕葡糖苷酶α/麥格司他

治療的受試者的呼吸衰退速率，52週後該等受試者表現出0.1%的絕對增加，而用阿葡糖苷酶α/安慰劑治療的受試者表現出4.0%的絕對衰退。

【0541】表39總結了經歷過ERT的受試者從基線到第52週的藉由就診的預測FVC %的平均變化和LS平均治療差異（對於正態分佈數據，使用ANCOVA）。圖25顯示了藉由就診匯總統計的線圖。

**[表39]：藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和ANCOVA模型（ITT-LOCF群體）的預測坐姿FVC %變化總結-經歷過ERT的群體-研究ATB200-03**

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 65） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 30） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| 基線[a] | | | | |
| n | 65 | | 30 | |
| 均數（SD） | 67.85 (19.052) | | 67.48 (20.993) | |
| 中位數（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週-LOCF | | | | |
| n | 64 | 64 | 30 | 30 |
| 均數（SD） | 67.86 (19.777) | 0.05 (5.843) | 63.47 (20.480) | -4.02（5.009） |
| 中位數（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的參數估計和比較 | | | | |
| 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平均值的差異（SE）（西帕葡糖苷酶α/麥格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰劑） | | | 3.51 (1.250) | |
| 差異的95% CI | | | （1.03，5.99） | |
| 2側p值 | | | 0.006 | |

縮寫：ANCOVA = 協方差分析；CHG = 相對於基線的變化；CI = 置信區間；ERT = 酶替代療法；FVC = 用力肺活量；ITT = 意向治療；LOCF = 末次觀察推進法；

LS = 最小二乘法；max = 最大值；min = 最小值；N = 每個治療組中的受試者數量；n = 具有可用數據的受試者數量；Q1 = 第一四分位數；Q3 = 第三四分位數；SD = 標準差；SE = 標準誤差

注意：所有估計值均來自ANCOVA模型，包括以下項：治療、基線預測坐姿FVC%、年齡、身高、體重（均為連續協變數）和性別。

[a] 基線係在第一次給藥日期時或之前獲得的最後2個值的平均值。

**MMT下肢得分**

【0542】 MMT下肢得分從基線到第52週的平均（SD）變化顯示，與阿葡糖苷酶α/安慰劑組的0.9（2.81）相比，西帕葡糖苷酶α/麥格司他組改善了1.6（4.13）。與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比，兩個治療組的MMT下肢得分結果均顯示改善並且定向有利於西帕葡糖苷酶α/麥格司他（p = 0.436）。

【0543】 表40總結了對於經歷過ERT的群體，藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和ANCOVA模型（ITT-LOCF群體）的MMT下肢得分的平均變化。圖28顯示了藉由就診匯總統計的線圖。

**[表40]：藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和ANCOVA模型（ITT-LOCF群體）的MMT下肢得分變化總結-經歷過ERT的群體-研究ATB200-03**

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 65） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 30） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| 基線[a] | | | | |
| n | 64 | | 27 | |
| 均數（SD） | 26.38 (5.144) | | 26.11 (5.813) | |
| 中位數（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週-LOCF | | | | |
| n | 60 | 60 | 27 | 27 |
| 均數（SD） | 28.18 (5.589) | 1.63 (4.129) | 26.96 (6.802) | 0.85 (2.811) |

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 65） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 30） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| 中位數（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的參數估計和比較[b] | | | | |
| n | 60 | | 27 | |
| LS平均值（SE） | 1.60 (0.486) | | 0.90 (0.735) | |
| LS平均值的95% CI | （0.64，2.57） | | （-0.56，2.36） | |
| LS平均值的差異（SE）（西帕葡糖苷酶α/麥格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰劑） | | | 0.70 (0.896) | |
| 差異的95% CI | | | （-1.08，2.49） | |
| 2側p值 | | | 0.436 | |

縮寫：ANCOVA = 協方差分析；CHG = 相對於基線的變化；CI = 置信區間；ERT = 酶替代療法；ITT = 意向治療；LOCF = 末次觀察推進法；LS = 最小二乘法；max = 最大值；min = 最小值；MMT = 徒手肌力測試；N = 每個治療組中的受試者數量；n = 具有可用數據的受試者數量；Q1 = 第一四分位數；Q3 = 第三四分位數；SD = 標準差；SE = 標準誤差

注意：下肢總得分包括以下8個身體部位：右/左髖關節屈曲、右/左髖關節外展、右/左膝關節屈曲和右/左膝關節伸展。得分範圍為0到40，得分越低表示肌肉力量越弱。

[a] 基線係研究藥物首個劑量投與前的非缺失值。

[b] 所有估計值均來自ANCOVA模型，包括以下項：治療、基線MMT下肢得分、年齡、身高、體重（均為連續協變數）和性別。

【0544】對於經歷過ERT的受試者，從基線到第26週的6MWD變化結果與第52週的結果基本一致。對於ANCOVA模型，LS平均治療差異（95% CI）為9.62米（-3.82，23.06），p值為0.158。

**PROMIS-身體功能**

【0545】 PROMIS-身體功能總得分從基線到第52週的平均（SD）變化顯示，與阿葡糖苷酶α/安慰劑組的1.0（11.20）相比，西帕葡糖苷酶α/麥格司他組平均改善了1.8（7.18）。與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比，PROMIS-身體功能量表的結果顯示改善並且定向有利於西帕葡糖苷酶α/麥格司他（p = 0.110）。

【0546】 表41總結了對於經歷過ERT的群體，藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和ANCOVA模型（ITT-LOCF群體）的PROMIS-身體功能總得分的平均變化。圖30顯示了藉由就診匯總統計的線圖。

**[表41]：藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和ANCOVA模型（ITT-LOCF群體）的PROMIS-身體功能簡表20a變化總結-經歷過ERT的群體-研究ATB200-03**

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 65） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 30） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| 基線[a] | | | | |
| n | 64 | | 30 | |
| 均數（SD） | 64.43 (11.379) | | 66.87 (12.286) | |
| 中位數（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週-LOCF | | | | |
| n | 64 | 64 | 30 | 30 |
| 均數（SD） | 66.19 (12.325) | 1.76 (7.179) | 65.90 (15.790) | -0.97（11.196） |
| 中位數（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的參數估計和比較[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） | |

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 65） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 30） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| LS平均值的差異（SE）（西帕葡糖苷酶α/麥格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰劑） | | | 3.14 (1.948) | |
| 差異的95% CI | | | （-0.73，7.02） | |
| 2側p值 | | | 0.110 | |

縮寫：ANCOVA = 協方差分析；CHG = 相對於基線的變化；CI = 置信區間；ERT = 酶替代療法；ITT = 意向治療；LOCF = 末次觀察推進法；LS = 最小二乘法；max = 最大值；min = 最小值；N = 每個治療組中的受試者數量；n = 具有可用數據的受試者數量；PROMIS = 患者報告的結果測量資訊系統；Q1 = 第一四分位數；Q3 = 第三四分位數；SD = 標準差；SE = 標準誤差

注意：總得分範圍為20至100，得分越高表示對身體功能的影響越小。

[a] 基線係研究藥物首個劑量投與前的最後一個非缺失值。

[b] 所有估計值均來自ANCOVA模型，包括以下項：治療、基線PROMIS-身體功能總得分、年齡、身高、體重（均為連續協變數）和性別。

**PROMIS-疲勞**

【0547】 PROMIS-疲勞總得分從基線到第52週的平均（SD）變化顯示，與阿葡糖苷酶α/安慰劑組的-0.5（5.72）相比，西帕葡糖苷酶α/麥格司他組平均改善了-0.1（5.99）。PROMIS-疲勞得分顯示有所改善，但在用西帕葡糖苷酶α/麥格司他和阿葡糖苷酶α/安慰劑治療的受試者之間，它們的改善相似（p = 0.476）。

【0548】 表42總結了對於經歷過ERT的群體，藉由就診（ITT群體）和ANCOVA模型（ITT-LOCF群體）的PROMIS-疲勞總得分從基線到第52週的平均變化。圖31顯示了藉由就診匯總統計的線圖。

**[表42]：藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和ANCOVA模型（ITT-LOCF群體）的PROMIS-疲勞簡表8a總得分變化總結-經歷過ERT的群體-研究**

**ATB200-03**

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 65） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 30） | |
|---|---|---|---|---|
| | **絕對值** | **CHG** | **絕對值** | **CHG** |
| 基線[a] | | | | |
| n | 65 | | 30 | |
| 均數（SD） | 22.00 (7.924) | | 20.37 (5.379) | |
| 中位數（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週-LOCF | | | | |
| n | 65 | 65 | 30 | 30 |
| 均數（SD） | 21.86 (7.888) | -0.14（5.986） | 19.87 (6.882) | -0.50（5.722） |
| 中位數（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) |
| Min，max | 8.0, 39.0 | -16.0, 19.0 | 8.0, 38.0 | -11.0, 11.0 |
| ANCOVA的參數估計和比較[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平均值的差異（SE）（西帕葡糖苷酶α/麥格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰劑） | | | -0.84（1.169） | |
| 差異的95% CI | | | （-3.16，1.49） | |
| 2側p值 | | | 0.476 | |

縮寫：ANCOVA = 協方差分析；CHG = 相對於基線的變化；CI = 置信區間；ERT = 酶替代療法；ITT = 意向治療；LOCF = 末次觀察推進法；LS = 最小二乘法；max = 最大值；min = 最小值；N = 每個治療組中的受試者數量；n = 具有可用數據的受試者數量；PROMIS = 患者報告的結果測量資訊系統；Q1 = 第一四分位數；Q3 = 第三四分位數；SD = 標準差；SE = 標準誤差

注意：總得分在8到40之間，得分越低表示疲勞影響越小，它係藉由將所有8個項的得分（1到5）相加計算得出的。

[a] 基線係研究藥物首個劑量投與前的最後一個非缺失值。

[b] 所有估計值均來自ANCOVA模型，包括以下項：治療、基線PROMIS-疲勞總得分、年齡、身高、體重（均為連續協變數）和性別。

**GSGC**

【0549】GSGC總得分從基線到第52週的平均（SD）變化顯示，與阿葡糖苷酶α/安慰劑組的0.6（1.83）相比，西帕葡糖苷酶α/麥格司他組平均改善了-0.5（2.53）。與總體群體相似，與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比，GSGC在使用西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療後表現出名義上的顯著改善（p = 0.050）。

【0550】表43總結了對於經歷過ERT的群體，藉由就診（ITT群體）和ANCOVA模型（ITT-LOCF群體）的GSGC總得分從基線到第52週的平均變化。圖29顯示了藉由就診匯總統計的線圖。

**[表43]：藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和ANCOVA模型（ITT-LOCF群體）的GSGC總得分變化總結-經歷過ERT的群體-研究ATB200-03**

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 55） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 25） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| 基線[a] | | | | |
| n | 55 | | 25 | |
| 均數（SD） | 15.61 (4.073) | | 15.52 (4.350) | |
| 中位數（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週-LOCF | | | | |
| n | 54 | 54 | 23 | 23 |
| 均數（SD） | 14.96 (4.809) | -0.53（2.534） | 15.87 (4.170) | 0.61 (1.828) |
| 中位數（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的參數估計和比較[b] | | | | |
| n | 54 | | 23 | |
| LS平均值（SE） | -0.54（0.318） | | 0.65 (0.494) | |

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 55） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 25） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| LS平均值的95% CI | （-1.18，0.09） | | （-0.34，1.63） | |
| LS平均值的差異（SE）（西帕葡糖苷酶α/麥格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰劑） | | | -1.19（0.596） | |
| 差異的95% CI | | | （-2.38，-0.00） | |
| 2側p值 | | | 0.050 | |

縮寫：ANCOVA = 協方差分析；CHG = 相對於基線的變化；CI = 置信區間；ERT = 酶替代療法；GSGC = 步態、樓梯、高爾斯動作和椅子測試；ITT = 意向治療；LOCF = 末次觀察推進法；LS = 最小二乘法；N = 每個治療組中的受試者數量；n = 具有可用數據的受試者數量；max = 最大值；min = 最小值；Q1 = 第一四分位數；Q3 = 第三四分位數；SD = 標準差；SE = 標準誤差

注意：步態得分基於10米步行測試；樓梯得分基於受試者爬樓梯；高爾斯動作得分基於受試者躺在地板上，然後從地板上站起來達到站立位置；椅子得分基於受試者從椅子上的坐姿到站姿。GSGC總得分係4項測試的加和，範圍從最低4分（正常表現）到最高27分（最差得分）。

[a] 基線係研究藥物首個劑量投與前的最後一個非缺失值。

[b] 所有估計值均來自ANCOVA模型，包括以下項：治療、基線GSGC總得分、年齡、身高、體重（均為連續協變數）和性別。

**ERT初治群體（不包括受試者4005-2511）**

**主要終點：第52週時6MWD**

【0551】 6MWD從基線到第52週的平均（SD）變化顯示，與阿葡糖苷酶α/安慰劑組的38.3（29.32）米相比，西帕葡糖苷酶α/麥格司他組平均改善了33.4（48.70）米。在ERT初治群體（n = 27）中，兩個治療組的受試者在第52週時均

顯示6MWD有所改善（p = 0.748）。

【0552】 表44總結了對於不包括受試者4005-2511的ERT初治群體，藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和MMRM分析（ITT-OBS群體）的6MWD平均變化。圖26B顯示了藉由就診匯總統計的線圖，包括受試者4005-2511。

**[表44]：藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和MMRM分析（ITT-OBS群體）的6MWD（米）變化總結-不包括受試者4005-2511的ERT初治群體-研究ATB200-03**

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 20） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 7） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| 基線[a] | | | | |
| n | 20 | | 7 | |
| 均數（SD） | 393.64 (112.388) | | 420.94 (135.749) | |
| 中位數（Q1，Q3） | 375.15<br>（329.50，498.75） | | 385.50<br>（351.40，522.65） | |
| Min，max | 154.0, 575.0 | | 201.0, 623.0 | |
| 第52週-觀察 | | | | |
| n | 20 | 20 | 7 | 7 |
| 均數（SD） | 427.09 (112.473) | 33.44 (48.704) | 459.28 (121.657) | 38.34 (29.315) |
| 中位數（Q1，Q3） | 452<br>（348.75，505.65） | 24.00<br>（-0.00，69.73） | 446.50<br>（370.00，570.65） | 33.50<br>（18.60，63.50） |
| Min，max | 166.5, 599.3 | -59.5, 120.0 | 284.5, 648.6 | -4.3, 83.5 |
| 第52週-LOCF | | | | |
| n | 20 | 20 | 7 | 7 |
| 均數（SD） | 427.09 (112.473) | 33.44 (48.704) | 459.28 (121.657) | 38.34 (29.315) |
| 中位數（Q1，Q3） | 452.58<br>（348.75，505.65） | 24.00<br>（-0.00，69.73） | 446.50<br>（370.00，570.65） | 33.50<br>（18.60，63.50） |
| Min，max | 166.5, 599.3 | -59.5, 120.0 | 284.5, 648.6 | -4.3, 83.5 |
| MMRM的參數估計和比較[b] | | | | |
| n | 20 | | 7 | |
| LS平均值（SE） | 32.92 (9.912) | | 39.47 (17.15) | |

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 20） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 7） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| LS平均值的95% CI | （12.40，53.44） | | （4.08，74.87） | |
| LS平均值的差異（SE）（西帕葡糖苷酶α/麥格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰劑） | | | -6.55（20.207） | |
| 差異的95% CI | | | （-48.19，35.08） | |
| 2側p值 | | | 0.748 | |

縮寫：6MWD = 6分鐘步行距離；CHG = 相對於基線的變化；CI = 置信區間；ERT = 酶替代療法；ITT = 意向治療；ITT-OBS = 意向治療群體，包括第52週時所有可用的觀察數據，沒有任何缺失數據插補；LOCF = 末次觀察推進法；LS = 最小二乘法；max = 最大值；min = 最小值；MMRM = 用於重複測量的混合效應模型；N = 每個治療組中的受試者數量；n = 具有可用數據的受試者數量；Q1 = 第一四分位數；Q3 = 第三四分位數；SD = 標準差；SE = 標準誤差

[a] 基線係在第一次給藥日期時或之前獲得的最後2個值的平均值。

[b] MMRM方法（使用受限最大似然估計）用於分析。該模型包括以下項：治療、基線6MWD、年齡、身高、體重（均為連續協變數）、性別、時間和治療時間相互作用。時間被用作重複測量，並應用了非結構化協方差方法。

【0553】 對於不包括受試者4005-2511的ERT初治群體，基於診斷圖和Shapiro-Wilk檢驗的檢查，MMRM分析的正態性假設也被違反。鑒於小樣本量和治療組之間基線特徵（例如性別）的差異，非參數Wilcoxon秩和檢驗係事後進行的。

【0554】 表45顯示了使用ITT-LOCF群體對ERT初治群體（不包括受試者4005-2511）在第52週時6MWD變化的非參數Wilcoxon秩和檢驗的結果。對於此檢驗，位置偏移（位置偏移的95% CI）為-9.0（-46.50，34.95），p值為0.604。

**[表45]：第52週6MWD（米）相對於基線的變化的非參數Wilcoxon秩和檢驗（ITT-LOCF群體）—不包括受試者4005-2511的ERT初治群體—研究ATB200-03**

| 非參數Wilcoxon秩和檢驗的參數估計和比較[a] | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 20） | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 7） |
|---|---|---|
| n | 20 | 7 |
| 位置偏移（漸近SE） | | -9.00（20.778） |
| 位置偏移的95% CI | | （-46.50，34.95） |
| 2側p值 | | 0.604 |

縮寫：6MWD = 6分鐘步行距離；CI = 置信區間；ERT = 酶替代療法；ITT = 意向治療；LOCF = 末次觀察推進法；N = 每個治療組中的受試者數量；n = 具有可用數據的受試者數量；SE = 標準誤差

[a] 位置偏移、漸近SE和95% CI來自Hodges-Lehmann估計。P值來自使用t近似的Wilcoxon 2樣本檢驗。

**預測坐姿FVC %**

【0555】 從基線到第52週，預測坐姿FVC %的平均（SD）變化對於西帕葡糖苷酶α/麥格司他組為-4.1%（6.53%），對於阿葡糖苷酶α/安慰劑組為-3.6%（4.71%）。使用正態分佈數據的ANCOVA模型，LS平均治療差異（95% CI）為-1.95（-8.93，5.03），p值為0.566。

【0556】 表46總結了對於不包括受試者4005-2511的ERT初治群體，藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和LS平均治療差異（正態分佈數據的ANCOVA）（ITT-LOCF群體）的預測坐姿FVC %的平均變化。圖26B顯示了藉由就診匯總統計的線圖，包括受試者4005-2511。

**[表46]：藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和ANCOVA（ITT-LOCF群體）的預測坐姿FVC %變化總結-不包括受試者4005-2511的ERT初治群體-研究**

**ATB200-03**

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 20） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 7） | |
|---|---|---|---|---|
| | **絕對值** | **CHG** | **絕對值** | **CHG** |
| 基線[a] | | | | |
| n | 20 | | 7 | |
| 均數（SD） | 80.15 (18.689) | | 79.07 (22.578) | |
| 中位數（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週-LOCF | | | | |
| n | 20 | 20 | 7 | 7 |
| 均數（SD） | 76.05 (19.300) | -4.10（6.526） | 75.43 (22.604) | -3.64（4.706） |
| 中位數（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的參數估計和比較[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平均值的差異（SE）（西帕葡糖苷酶α/麥格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰劑） | | | -1.95（3.346） | |
| 差異的95% CI | | | （-8.93，5.03） | |
| 2側p值 | | | 0.566 | |

縮寫：ANCOVA = 協方差分析；CHG = 相對於基線的變化；CI = 置信區間；ERT = 酶替代療法；FVC = 用力肺活量 ITT = 意向治療；LOCF = 末次觀察推進法；LS = 最小二乘法；max = 最大值；min = 最小值；N = 每個治療組中的受試者數量；n = 具有可用數據的受試者數量；Q1 = 第一四分位數；Q3 = 第三四分位數；SD = 標準差；SE = 標準誤差

[a] 基線係在第一次給藥日期時或之前獲得的最後2個值的平均值。

[b] 所有估計值均來自ANCOVA模型，包括以下項：治療、基線預測坐姿FVC%、年齡、身高、體重（均為連續協變數）和性別。

**MMT下肢得分**

【0557】 MMT下肢得分從基線到第52週的平均（SD）變化顯示，與阿葡糖苷酶α/安慰劑組的1.0(1.53)相比，西帕葡糖苷酶α/麥格司他組改善了1.4(2.55)（p = 0.534）。

【0558】 表47總結了對於不包括受試者4005-2511的ERT初治群體，藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和ANCOVA模型（ITT-LOCF群體）的MMT下肢得分的平均變化。圖81顯示了藉由就診匯總統計的線圖。

**[表47]：藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和ANCOVA模型（ITT-LOCF群體）的MMT下肢得分變化總結—不包括受試者4005-2511的ERT初治群體—研究ATB200-03**

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 20） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 7） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| 基線[a] | | | | |
| n | 20 | | 7 | |
| 均數（SD） | 33.00 (4.686) | | 33.57 (3.359) | |
| 中位數（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週-LOCF | | | | |
| n | 20 | 20 | 7 | 7 |
| 均數（SD） | 34.35 (4.977) | 1.36 (2.554) | 34.57 (3.910) | 1.00 (1.528) |
| 中位數（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的參數估計和比較[b] | | | | |
| n | 20 | | 7 | |
| LS平均值（SE） | 1.46 (0.547) | | 0.69 (1.013) | |
| LS平均值的95% CI | （0.32，2.61） | | （-1.43，2.80） | |
| LS平均值的差異（SE）（西帕葡糖苷酶α/麥格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰劑） | | | 0.78 (1.230) | |

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 20） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 7） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| 差異的95% CI | | | （-1.79，3.34） | |
| 2側p值 | | | 0.534 | |

縮寫：ANCOVA = 協方差分析；CHG = 相對於基線的變化；CI = 置信區間；ERT = 酶替代療法；ITT = 意向治療；LOCF = 末次觀察推進法；LS = 最小二乘法；max = 最大值；min = 最小值；MMT = 徒手肌力測試；N = 每個治療組中的受試者數量；n = 具有可用數據的受試者數量；Q1 = 第一四分位數；Q3 = 第三四分位數；SD = 標準差；SE = 標準誤差

[a] 基線係第一次給藥日期之前的最後一個非缺失值。

[b] 所有估計值均來自ANCOVA模型，包括以下項：治療、基線MMT下肢得分、年齡、身高、體重（均為連續協變數）和性別。

**第26週時6MWD**

【0559】 對於不包括受試者4005-2511的ERT初治群體，從基線到第26週的6MWD（米）變化結果與第52週的結果基本一致。對於ANCOVA模型，LS平均治療差異（95% CI）為-10.38米（-49.27，28.51），p值為0.584。

**PROMIS-身體功能**

【0560】 PROMIS-身體功能總得分從基線到第52週的平均（SD）變化顯示，與阿葡糖苷酶α/安慰劑組的5.1（7.82）相比，西帕葡糖苷酶α/麥格司他組平均改善了2.5（8.62）。相比於西帕葡糖苷酶α/麥格司他，兩個治療組的PROMIS-身體功能評分結果均顯示改善並且定向有利於阿葡糖苷酶α/安慰劑（p = 0.249）。

【0561】 表48總結了對於不包括受試者4005-2511的ERT初治群體，藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和ANCOVA模型（ITT-OBS群體）的PROMIS-身體功能總得分的平均變化。圖82顯示了藉由就診匯總統計的線圖。

**[表48]：藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和ANCOVA模型（ITT-LOCF群體）的PROMIS-身體功能簡表20a變化總結—不包括受試者4005-2511的ERT初治受試者—研究ATB200-03**

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 20） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 7） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| 基線[a] | | | | |
| n | 20 | | 7 | |
| 均數（SD） | 74.65 (11.984) | | 72.71 (16.317) | |
| 中位數（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週-LOCF | | | | |
| n | 20 | 20 | 7 | 7 |
| 均數（SD） | 77.15 (11.536) | 2.50 (8.618) | 77.86 (15.742) | 5.14 (7.819) |
| 中位數（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的參數估計和比較[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平均值的差異（SE）（西帕葡糖苷酶α/麥格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰劑） | | | -5.09（4.288） | |
| 差異的95% CI | | | （-14.04，3.85） | |
| 2側p值 | | | 0.249 | |

縮寫：ANCOVA = 協方差分析；CHG = 相對於基線的變化；CI = 置信區間；ERT = 酶替代療法；ITT = 意向治療；LOCF = 末次觀察推進法；LS = 最小二乘法；max = 最大值；min = 最小值；N = 每個治療組中的受試者數量；n = 具有可用數據的受試者數量；PROMIS = 患者報告的結果測量資訊系統；Q1 = 第一四分位數；Q3 = 第三四分位數；SD = 標準差；SE = 標準誤差

注意：總得分在20到100之間，得分越高表示身體功能影響越小，它係藉由將所

有20個項的得分（1到5）相加計算得出的。

[a] 基線係第一次給藥日期之前的最後一個非缺失值。

[b] 所有估計值均來自ANCOVA模型，包括以下項：治療、基線PROMIS-身體功能總得分、年齡、身高、體重（均為連續協變數）和性別。

**PROMIS-疲勞**

【0562】 PROMIS-疲勞總得分從基線到第52週的平均（SD）變化顯示，西帕葡糖苷酶α/麥格司他組平均改善了-2.7（5.17），阿葡糖苷酶α/安慰劑組平均改善了-5.4（6.61）。兩個治療組的PROMIS-疲勞評分結果均有所改善（p = 0.338）。

【0563】 表49總結了對於不包括受試者4005-2511的ERT初治群體，藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和ANCOVA模型（ITT-LOCF群體）的PROMIS-疲勞總得分的平均變化。圖83顯示了藉由就診匯總統計的線圖。

**[表49]：藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和ANCOVA模型（ITT-LOCF群體）的PROMIS-疲勞簡表8a總得分變化總結-不包括受試者4005-2511的ERT初治群體-研究ATB200-03**

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 20） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 7） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| 基線[a] | | | | |
| n | 20 | | 7 | |
| 均數（SD） | 23.10 (9.614) | | 24.13 (8.360) | |
| 中位數（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週-LOCF | | | | |
| n | 20 | 20 | 7 | 7 |
| 均數（SD） | 20.60 (9.681) | -2.50（5.630） | 16.43 (7.231) | -7.70（8.771） |
| 中位數（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） |

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 20） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 7） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| Min，max | 8.0, 40.0 | -19.0, 9.0 | 8.0, 26.0 | -21.0, 5.0 |
| ANCOVA的參數估計和比較[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平均值的差異（SE）（西帕葡糖苷酶α/麥格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰劑） | | | 3.29 (3.346) | |
| 差異的95% CI | | | （-3.69，10.27） | |
| 2側p值 | | | 0.338 | |

縮寫：ANCOVA = 協方差分析；CHG = 相對於基線的變化；CI = 置信區間；ERT = 酶替代療法；ITT = 意向治療；LOCF = 末次觀察推進法；LS = 最小二乘法；max = 最大值；min = 最小值；N = 每個治療組中的受試者數量；n = 具有可用數據的受試者數量；PROMIS = 患者報告的結果測量資訊系統；Q1 = 第一四分位數；Q3 = 第三四分位數；SD = 標準差；SE = 標準誤差

注意：總得分在8到40之間，得分越低表示疲勞影響越小，它係藉由將所有8個項的得分（1到5）相加計算得出的。

[a] 基線係研究藥物首個劑量投與前的最後一個非缺失值。

[b] 所有估計值均來自ANCOVA模型，包括以下項：治療、基線PROMIS-疲勞總得分、年齡、身高、體重（均為連續協變數）和性別。

**GSSC**

【0564】GSGC總得分從基線到第52週的平均（SD）變化顯示，西帕葡糖苷酶α/麥格司他組改善了-0.6（2.64），阿葡糖苷酶α/安慰劑組改善了1.3（1.80）。對於ANCOVA模型，LS平均治療差異（95% CI）為-1.32（-4.03，1.39），p值為0.320。

【0565】 表50總結了對於不包括受試者4005-2511的ERT初治群體，藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和ANCOVA模型（ITT-OBS群體）的GSGC總得分的平均變化。圖84顯示了藉由就診匯總統計的線圖。

**[表50]：藉由從基線到第52週的就診（ITT群體）和ANCOVA模型（ITT-LOCF群體）的GSGC總得分變化總結-不包括受試者4005-2511的ERT初治受試者-研究ATB200-03**

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 19） | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 7） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絕對值 | CHG | 絕對值 | CHG |
| 基線[a] | | | | |
| n | 19 | | 7 | |
| 均數（SD） | 11.32 (6.650) | | 10.86 (4.413) | |
| 中位數（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週-LOCF | | | | |
| n | 18 | 18 | 7 | 7 |
| 均數（SD） | 10.06 (5.407) | -0.56（2.640） | 12.14 (4.598) | 1.29 (1.799) |
| 中位數（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的參數估計和比較[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平均值的差異（SE）（西帕葡糖苷酶α/麥格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰劑） | | | -1.32（1.289） | |
| 差異的95% CI | | | （-4.03，1.39） | |
| 2側p值 | | | 0.320 | |

縮寫：ANCOVA = 協方差分析；CHG = 相對於基線的變化；CI = 置信區間；ERT = 酶替代療法；GSGC = 步態、樓梯、高爾斯動作和椅子測試；ITT = 意向治療；

LOCF = 末次觀察推進法；LS = 最小二乘法；max = 最大值；min = 最小值；N = 每個治療組中的受試者數量；n = 具有可用數據的受試者數量；Q1 = 第一四分位數；Q3 = 第三四分位數；SD = 標準差；SE = 標準誤差

注意：步態得分基於10米步行測試；樓梯得分基於受試者爬樓梯；高爾斯動作得分基於受試者躺在地板上，然後從地板上站起來達到站立位置；椅子得分基於受試者從椅子上的坐姿到站姿。GSGC總得分係4項測試的加和，範圍從最低4分（正常表現）到最高27分（最差得分）。

[a] 基線係研究藥物首個劑量投與前的最後一個非缺失值。

[b] 所有估計值均來自ANCOVA模型，包括以下項：治療、基線GSGC總得分、年齡、身高、體重（均為連續協變數）和性別。

**ATB200-03結果總結**

【0566】 表51和圖85總結了ITT群體（不包括離群值受試者）的主要終點、關鍵次要終點和其他幾個次要終點（運動和肺功能、肌肉力量和PRO）以及生物標誌物終點（Hex4和CK）的結果，其顯示了每個治療組內每個終點在第52週時與基線相比的變化的標準化效應大小。圖85中，與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比，絕大多數終點的結果在第52週時有所改善（用0以上的柱表示）並且定向有利於西帕葡糖苷酶α/麥格司他（用較高的左側/深色柱相對於右側/淺色柱表示）。

【0567】 觀察到西帕葡糖苷酶α/麥格司他在多個參數方面相對於基線有統計學顯著改善（對於增加即改善的參數，95% CI的下限> 0；對於減少即改善的參數，95% CI的下限< 0）：6MWD、預測的6MWD %、MMT下肢、MMT上肢、總體MMT、PROMIS-身體功能、PROMIS-疲勞、CK和Hex4，僅在坐姿SVC時觀察到統計學上顯著的衰退。相比之下，阿葡糖苷酶α/安慰劑組的任何參數均未觀察到與基線相比有統計學顯著性的改善，而GSGC、坐姿FVC、仰臥FVC、坐姿SVC和CK均觀察到統計學上顯著的衰退。

**[表51]：ITT群體的目標終點總結，不包括離群值受試者4005 -2511-研究 ATB200-03**

| 類別 | 終點 | 終點等級 | 總體受試者 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他 | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑 | | 2側P值 |
| | | | BL平均值 | CFBL第52週LOCF平均值（95% CI） | BL平均值 | CFBL第52週LOCF平均值（95% CI） | |
| 運動功能 | 6MWD | 1 | 357.93 | 20.79 (11.56, 30.01) | 350.95 | 7.24 (-6.19, 20.67) | 0.071 |
| | 6MWD第26週 | 關鍵2 | 357.93 | 17.44 (9.80, 25.08) | 350.95 | 9.19 (-0.20, 18.59) | 0.195 |
| | GSGC | 關鍵2 | 14.51 | -0.53（-1.13，0.06） | 14.50 | 0.77 (0.09, 1.44) | **0.009** |
| | 預測的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級樓梯（秒） | 2 | 14.09 | -8.46（-24.26，7.34） | 8.22 | 0.32 (-1.66, 2.29) | **0.050** |
| | 高爾斯（秒） | 2 | 10.84 | -0.26（-1.74，1.22） | 19.82 | -2.19（-5.04，0.66） | 0.305 |
| | 椅子測試（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，%預測） | 第一關鍵2 | 70.74 | -0.93（-2.29，0.42） | 69.68 | -3.95（-5.58，-2.32） | **0.023** |
| | FVC（仰臥，%預測） | 2 | 54.78 | -0.24（-1.46，0.99） | 55.09 | -3.00（-4.67，1.33） | **0.009** |
| | SVC（坐姿，%預 | 2 | 69.94 | -2.32（-4.25，-0.38） | 68.59 | -5.86（-8.83，-2.90） | 0.125 |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 測） | | | | | | |
| | MIP（%預測） | 2 | 61.79 | 2.06 (-2.11, 6.23) | 59.90 | -2.70（-8.32，2.92） | 0.278 |
| | MEP（%預測） | 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 | 關鍵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 |
| | 總體MMT | 2 | 62.25 | 3.07 (1.66, 4.48) | 62.35 | 1.41 (-0.12,2.94) | 0.059 |
| | QMT總計 | 2 | 165.83 | 6.86 (-5.31, 19.04) | 158.8 | 8.20 (-2.38, 18.77) | 0.751 |
| QOL | PROMIS-身體 | 關鍵2 | 66.86 | 1.94 (0.31, 3.57) | 67.97 | 0.19 (-3.42, 3.80) | 0.276 |
| | PROMS-疲勞 | 關鍵2 | 22.26 | -2.02（-3.26，-0.77） | 21.08 | -1.67（-3.88，0.54） | 0.970 |
| 生物標誌物 | 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** |

縮寫：6MWD = 6分鐘步行距離；ANCOVA = 協方差分析；BL = 基線；CFBL = 相對於基線的變化；CI = 置信區間；CK = 肌酸激酶；ERT = 酶替代療法；FVC = 用力肺活量；GSGC = 步態、樓梯、高爾斯動作和從椅子上起身測試；Hex4 = 己糖四糖；ITT = 意向治療；LOCF = 末次觀察推進法；MEP = 最大呼氣壓力；MIP = 最大吸氣壓力；MMT = 徒手肌力測試；PROMIS = 患者報告的結果測量資訊系統；QMT = 定量肌肉測試；QOL = 生活品質；sec = 秒；SVC = 慢肺活量；TUG = 計時起立行走測試

注意：終點等級1 = 主要；終點等級2 = 次要

注意：陰影CFBL平均值 = CFBL改善；非陰影CLFBL平均值 = CFBL惡化。

注意：陰影終點表示Cipa/mig組有利。

注意：P值係名義上的，基於ANCOVA，但6MWD除外，它基於基於非參數隨機化的ANCOVA。

注意：基於LOCF手段。

注意：粗體p值表示在該指定群體（例如，總體或經歷過ERT）中指定終點（例如，6MWD）的優勢測試在名義上係顯著的。

**使用具有實際評估時間點的MMRM分析主要和次要終點-研究ATB200-03**

【0568】 雖然預設分析(主要終點6MWD的非參數ANCOVA和關鍵次要終點的ANCOVA）係阿米克斯公司（Amicus）的核心立場，並包含在公司核心數據表（CCDS）中，但在評估歐盟上市授權申請（MAA）期間，應人用醫藥產品委員會（CHMP）的要求進行了額外的事後分析。該等分析使用具有實際評估時間點的MMRM方法，該等分析的結果顯示在EU產品特性摘要（SmPC）中。

**總體ITT群體中的MMRM分析**

【0569】 使用MMRM模型對6MWD進行分析，該模型具有ITT-OBS上的實際評估時間點，並排除離群值受試者4005-2511。具體而言，因變數係評估中相對於基線的變化。引數包括治療的固定分類效應、ERT狀態和性別，以及評估時間（天）、基線6MWD、基線年齡、基線體重和基線身高的固定連續協變數、以及治療時間相互作用。模型中還包括對受試者的隨機截取。然後使用第364天的LS平均值以及95% CI估計每個治療組在第52週時相對於基線的變化和治療組之間的差異。該分析的結果總結在表52中。西帕葡糖苷酶α/麥格司他的六分鐘步行距離與基線相比顯示出顯著改善，並且與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比改善更大，但未顯示出統計學優勢。第52週時，阿葡糖苷酶α/麥格司他組的LS平均改善(95% CI）相對於基線為20.0 m（13.1，26.9），相比之下，阿葡糖苷酶α/安慰劑組為8.3 m（-2.2，18.8）。LS平均值治療差異（95% CI）為11.7 m（-1.0，24.4）。

**[表52]：基於MMRM模型的6MWD結果總結，評估的實際時間點（ITT-OBS群體，不包括受試者4005-2511）—研究ATB200-03**

| 終點 | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他 LS平均值（95% CI） | 阿葡糖苷酶α/安慰劑 LS平均值（95% CI） | LS平均治療差異[a] | 差異的95% CI[b] |
|---|---|---|---|---|
| CHG至第52週，6MWD | 20.0 (13.1, 26.9) | 8.3 (-2.2, 18.8) | 11.7 | （-1.0，24.4） |

縮寫：6MWD = 6分鐘步行距離；CHG = 相對於基線的變化；CI = 置信區間；ERT = 酶替代療法；ITT-OBS = 意向治療群體，包括第52週時所有可用的觀察數據，沒有任何缺失數據插補；LS = 最小二乘法；MMRM = 用於重複測量的混合效應模型

[a] 差異 = 西帕葡糖苷酶α/麥格司他-阿葡糖苷酶α/安慰劑

[b] MMRM模型用於基於ITT-OBS群體的分析。該模型包括針對以下的項：治療、評估時間、根據評估時間相互作用進行的治療、基線6MWD值、年齡、身高、體重（均為連續協變數）、ERT狀態（ERT初治與經歷過ERT）和性別。

【0570】還使用具有實際時間點評估的MMRM模型對ITT-OBS群體進行了預測坐姿FVC %、MMT下肢得分、PROMIS-身體功能、PROMIS-疲勞和GSGC總得分的關鍵次要終點的分析。表53總結了組合的總體ITT-OBS群體（經歷過酶替代療法[ERT]和ERT初治）的5個關鍵次要終點的結果，不包括離群值受試者（4005-2511）。對於預測的FVC %，與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比，西帕葡糖苷酶α/麥格司他在總體ITT-OBS群體中表現出名義上的顯著改善（差異的95% CI排除0）。相比於阿葡糖苷酶α/安慰劑，列出的其他關鍵次要終點（包括運動功能（MMT和GSGC）和PRO（PROMIS-身體功能和PROMIS-疲勞）的評估）的結果在數值上有利於西帕葡糖苷酶α/麥格司他，GSGC也顯示出名義上的優勢。作為相對於基線的變化，觀察到西帕葡糖苷酶α/麥格司他對MMT、PROMIS-身

體功能、PROMIS-疲勞和GSGC的平均改善。綜上所述，龐貝氏病多個臨床維度結果的一致性提供了支持性證據，證明西帕葡糖苷酶α/麥格司他在總體群體中優於阿葡糖苷酶α/安慰劑的功效益處。

**[表53]：基於MMRM模型的關鍵次要終點結果總結，評估的實際時間點（ITT-OBS群體，不包括受試者4005-2511）—研究ATB200-03**

| 水平<br>終點 | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他<br>LS平均值（95% CI） | 阿葡糖苷酶α/安慰劑<br>LS平均值（95% CI） | LS平均治療差異[a] | 差異的95% CI[b] |
|---|---|---|---|---|
| CHG至第52週，預測坐姿FVC % | -1.4（-2.5，-0.3） | -3.7（-5.4，-2.0） | 2.3 | （0.2，4.4） |
| CHG至第52週，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週，PROMIS-身體功能總得分[c] | 2.2 (0.5, 3.9) | -0.3（-2.9，2.3） | 2.5 | （-0.6，5.7） |
| CHG至第52週，PROMIS-疲勞總得分[c] | -2.0（-3.2，-0.9） | -1.7（-3.4，0.0） | -0.3 | （-2.4，1.8） |
| CHG至第52週，GSGC總得分 | -0.7（-1.2，-0.2） | 0.8 (0.0, 1.5) | -1.5 | （-2.4，-0.6） |

縮寫：CHG = 相對於基線的變化；CI = 置信區間；ERT = 酶替代療法；FVC = 用力肺活量；GSGC = 步態、樓梯、高爾斯動作和椅子測試；ITT-OBS = 意向治療群體，包括第52週時所有可用的觀察數據，沒有任何缺失數據插補；LS = 最小二乘法；MMRM = 用於重複測量的混合效應模型；MMT = 徒手肌力測試；PROMIS = 患者報告的結果測量資訊系統

[a] 差異 = 西帕葡糖苷酶α/麥格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰劑。對於PROMIS-疲勞和GSGC，減少表示改善。

[b] MMRM模型用於基於ITT-OBS群體的關鍵次要終點的分析。該模型包括針對

以下的項：治療、評估時間、根據評估時間相互作用進行的治療、基線反應變數、年齡、身高、體重（均為連續協變數）、ERT狀態（ERT初治與經歷過ERT）和性別。

[c] 總得分係藉由將所有項目的得分（1到5）相加計算得出的。

**按ERT狀態的MMRM分析**

【0571】主要和關鍵次要終點的分析也使用與上述相同的模型按酶替代療法（ERT）狀態進行。表54總結了ITT-OBS經歷過ERT的群體的主要終點和5個關鍵次要終點的結果。對於6MWD從基線到第52週的變化這一主要終點，與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比，西帕葡糖苷酶α/麥格司他顯示出相對於基線的顯著改善以及名義上具有統計學顯著性（LS平均治療差異的95% CI排除0）和具有臨床意義的改善。同樣，對於第一個關鍵次要終點（預測FVC %），與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比，西帕葡糖苷酶α/麥格司他顯示出名義上具有統計學顯著性（LS平均治療差異的95% CI排除0）和具有臨床意義的改善。相比於阿葡糖苷酶α/安慰劑，列出的其他關鍵次要終點（包括肌肉力量和運動功能（MMT下肢和GSGC）以及PRO（PROMIS-身體功能和PROMIS-疲勞）的評估）的結果在數值上有利於西帕葡糖苷酶α/麥格司他，GSGC也顯示出名義上的優勢。作為相對於基線的變化，觀察到西帕葡糖苷酶α/麥格司他對MMT、PROMIS-身體功能、PROMIS-疲勞和GSGC的平均改善。綜上所述，龐貝氏病臨床表現的多個維度結果的一致性提供了支持性證據，證明西帕葡糖苷酶α/麥格司他在經歷過ERT的群體中優於阿葡糖苷酶α/安慰劑的功效益處。

**[表54]：基於MMRM模型的主要和關鍵次要終點的結果總結，評估的實際時間點（ITT-OBS群體-經歷過ERT的受試者）-研究ATB200-03**

| 水平<br>終點 | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他<br>LS平均值（95% CI） | 阿葡糖苷酶α/安慰劑<br>LS平均值（95% CI） | LS平均治療差異[a] | 差異的95% CI[b] |
|---|---|---|---|---|

| 水平<br>終點 | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他<br>LS平均值（95% CI） | 阿葡糖苷酶α/安慰劑<br>LS平均值（95% CI） | LS平均治療差異[a] | 差異的95% CI[b] |
|---|---|---|---|---|
| 主要終點 | | | | |
| CHG至第52週，6MWD | 15.8 (8.3, 23.4) | 0.9 (-10.2, 12.1) | 14.9 | （1.2，28.6） |
| 關鍵次要終點 | | | | |
| CHG到第52週，預測坐姿FVC % | -0.2（-1.5，1.1） | -3.8（-5.7，-1.9） | 3.6 | （1.3，5.9） |
| CHG至第52週，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週，PROMIS-身體功能總得分[c] | 2.0 (-0.0, 4.0) | -1.6（-4.5，1.4） | 3.5 | （-0.1，7.1） |
| CHG至第52週，PROMIS-疲勞總得分[c] | -1.9（-3.2，-0.6） | -0.7（-2.6，1.2） | -1.2 | （-3.5，1.1） |
| CHG至第52週，GSGC總得分 | -0.7（-1.3，-0.1） | 0.5 (-0.4, 1.4) | -1.2 | （-2.2，-0.1） |

縮寫：6MWD = 6分鐘步行距離；CHG = 相對於基線的變化；CI = 置信區間；ERT = 酶替代療法；FVC = 用力肺活量；GSGC = 步態、樓梯、高爾斯動作和椅子測試；ITT-OBS = 意向治療群體，包括第52週時所有可用的觀察數據，沒有任何缺失數據插補；LS = 最小二乘法；MMRM = 用於重複測量的混合效應模型；MMT = 徒手肌力測試；PROMIS = 患者報告的結果測量資訊系統

[a] 差異 = 西帕葡糖苷酶α/麥格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰劑。對於PROMIS-疲勞和GSGC，減少表示改善。

[b] MMRM模型用於分析基於ITT-OBS群體的主要和關鍵次要終點。該模型包括針對以下的項：治療、評估時間、根據評估時間相互作用進行的治療、基線反應變數、年齡、身高、體重（均為連續協變數）和性別。

[c] 總得分係藉由將所有項目的得分（1到5）相加計算得出的。

【0572】 相反，對於ERT初治群體，預測FVC %的第一個關鍵次要終點在兩個治療組中均相對於基線下降，在數值上有利於阿葡糖苷酶α/安慰劑組。評估

肌肉力量和運動功能（MMT下肢和GSGC）的關鍵次要終點的結果表明，西帕葡糖苷酶α/麥格司他組相對於基線有所改善，並且相比於阿葡糖苷酶α/安慰劑，在數量上有利於西帕葡糖苷酶α/麥格司他。對於PRO關鍵次要終點（PROMIS-身體功能和PROMIS-疲勞），兩個治療組均表現出改善，在數值上有利於阿葡糖苷酶α/安慰劑組。總體而言，對於ERT初治群體，一些終點在數值上有利於西帕葡糖苷酶α/麥格司他，一些終點在數值上有利於阿葡糖苷酶α/安慰劑，但沒有一個終點達到名義上的統計顯著性。該等結果表明，在ERT初治群體中，西帕葡糖苷酶α/麥格司他的功效並不差於阿葡糖苷酶α/安慰劑。

【0573】 表55總結了ITT-OBS ERT初治群體（不包括離群值受試者）的主要終點和5個關鍵次要終點的結果。對於6MWD從基線到第52週變化的主要終點，在兩個治療組中均觀察到相對於基線有臨床意義的改善，在數值上有利於阿葡糖苷酶α/安慰劑組。在ERT初治群體中，MMRM分析的可解釋性可能會受到因樣本量小而導致的協變數不平衡造成的估計值不穩定的影響，因此不關於協變數調整的分析（諸如相對於基線的未經調整的平均變化）應被視為評估該組6MWD的主要方法。

**[表55]：基於MMRM模型的主要和關鍵次要終點的結果總結，評估的實際時間點（ITT-OBS群體，不包括受試者4005-2511 - ERT初治受試者）-研究ATB200-03**

| 水平<br>終點 | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他<br>LS平均值（95% CI） | 阿葡糖苷酶α/安慰劑<br>LS平均值（95% CI） | LS平均治療差異[a] | 差異的95% CI[b] |
|---|---|---|---|---|
| 主要終點 | | | | |
| CHG至第52週，6MWD | 28.5 (12.4, 44.7) | 52.7 (23.2, 82.3) | -24.2 | （-60.0，11.7） |
| 關鍵次要終點 | | | | |
| CHG到第52週，預測坐姿FVC % | -5.2（-7.5，-2.9） | -2.4（-6.7，1.8） | -2.8 | （-7.8，2.3） |

| 水平<br>終點 | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他<br>LS平均值（95% CI） | 阿葡糖苷酶α/安慰劑<br>LS平均值（95% CI） | LS平均治療差異[a] | 差異的95% CI[b] |
|---|---|---|---|---|
| CHG至第52週，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週，PROMIS-身體功能總得分[c] | 2.6 (-1.0, 6.3) | 5.8 (-0.9, 12.4) | -3.1 | （-11.2，4.9） |
| CHG至第52週，PROMIS-疲勞總得分[c] | -3.0（-5.7，-0.2） | -4.9（-9.9，0.0） | 2.0 | （-4.1，8.0） |
| CHG至第52週，GSGC總得分 | -0.6（-1.6，0.4） | 1.3 (-0.4, 3.1) | -1.9 | （-4.1，0.2） |

縮寫：6MWD = 6分鐘步行距離；CHG = 相對於基線的變化；CI = 置信區間；ERT = 酶替代療法；FVC = 用力肺活量；GSGC = 步態、樓梯、高爾斯動作和椅子測試；ITT-OBS = 意向治療群體，包括第52週時所有可用的觀察數據，沒有任何缺失數據插補；LS = 最小二乘法；MMRM = 用於重複測量的混合效應模型；MMT = 徒手肌力測試；PROMIS = 患者報告的結果測量資訊系統

[a] 差異 = 西帕葡糖苷酶α/麥格司他 - 阿葡糖苷酶α/安慰劑。對於PROMIS-疲勞和GSGC，減少表示改善。

[b] MMRM模型用於基於ITT-OBS群體的主要和關鍵次要終點的分析。該模型包括針對以下的項：治療、評估時間、根據評估時間相互作用進行的治療、基線反應變數、年齡、身高、體重（均為連續協變數）和性別。

[c] 總得分係藉由將所有項目的得分（1到5）相加計算得出的。

**患者報告的結果和醫生對變化的總體印象—研究ATB200-03**

【0574】其他PRO包括PROMIS-呼吸困難、PROMIS-上肢、R-PACT、EQ-5D-5L、SGIC。PGIC也包括在內。PROMIS、R-PACT和EQ-5D-5L的結果在兩個治療組中都顯示出相似的改善。SGIC和PGIC顯示出持續更大的改善，有利於西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療。

【0575】評估了八個不同的SGIC終點：總體身體健康、呼吸的力度、肌肉力量、肌肉功能、四處走動的能力、日常生活活動、能量水平和肌肉疼痛。在所有該等領域中，與接受阿葡糖苷酶α治療的患者相比，接受西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療的總群體中有更大比例的患者報告有改善，並且更低比例的患者報告有惡化。PGIC也觀察到了類似的結果。下面顯示了SGIC總體身體健康領域（其代表了該等量度所報告的益處）的結果（圖86）。

**6MWD和FVC的改善的臨床相關性—研究ATB200-03**

【0576】龐貝氏病中6MWD和FVC的臨床相關變化的閾值尚未確定，但是存在大量來自其他神經肌肉和慢性呼吸系統疾病，尤其是間質性肺纖維化（IPF）的數據。在那裡，6MWD增加大於6%（範圍3%至11%）和FVC變化大於3%（範圍2%至6%）被認為具有臨床相關性，使用基於錨定和基於分佈之方法。因此，該等閾值被應用於研究ATB200-03數據的分析。

【0577】對於西帕葡糖苷酶α/麥格司他在6MWD和FVC方面觀察到的結果代表了對患者具有臨床意義的改善。西帕葡糖苷酶α/麥格司他組的6MWD平均改善21米，較基線（平均358米）增加約6%，這表明具有臨床意義的組水平改善，而阿葡糖苷酶α組的平均改善為7米，並未達到這個閾值。對於FVC，相對於阿葡糖苷酶α/安慰劑，用西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療的受試者的3%改善表明具有臨床意義的組水平改善，這與LOTS隨機對照關鍵研究中阿葡糖苷酶α本身相對於安慰劑顯示出的具有臨床意義的改善幅度相似。

【0578】根據上述醫學文獻分別使用±6%、±3%和±7%的具有臨床有意義的反應閾值，藉由對6MWD、FVC和MMT下肢得分的反應進行預設的綜合患者水平反應者分析，進一步支持了該等組水平分析的臨床相關性。這項預設分析顯示，在用西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療的總體群體中，較大比例的受試者顯示出具有臨床意義的改善，並且較小比例的受試者在這3個終點上顯示出具有臨床

意義的惡化，這使得總體上看，西帕葡糖苷酶α/麥格司他優於阿葡糖苷酶α/安慰劑（p = 0.012）。

【0579】 對6MWD和FVC均有臨床意義改善的受試者進行的預先指定比較顯示，對於西帕葡糖苷酶α/麥格司他在兩個領域均有改善的受試者比例顯著更大（p = 0.041）。使用單獨和組合的6MWD（± 6%）和FVC（± 3%）的該等閾值進行另外的事後患者水平分析。該等分析表明，分別對於6MWD（p = 0.018）（圖87A）和FVC（p = 0.011）（圖87B），以及對於6MWD和FVC兩者（p = 0.002）（圖87C），與用阿葡糖苷酶α/安慰劑治療的患者相比，用西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療的受試者中有更大比例的受試者顯示出具有臨床意義的改善，並且更小比例的受試者顯示出具有臨床意義的惡化。

【0580】 另外的敏感性分析表明，在一系列反應閾值（例如，6MWD ± 30m、± 20m、± 10m；FVC ± 9%、± 6%、± 3%）中，與用阿葡糖苷酶α/安慰劑治療的患者相比，用西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療的受試者中有更大比例的受試者表現出具有臨床意義的改善，並且更小比例的受試者表現出具有臨床意義的惡化。

**結論—研究ATB200-03**

【0581】 對主要終點6MWD在總體群體中針對優勢進行了測試，儘管西帕葡糖苷酶α/麥格司他組在數值上優於阿葡糖苷酶α/安慰劑組，但未達到統計學顯著性（p = 0.071）。

【0582】 在第一個關鍵次要終點FVC方面，西帕葡糖苷酶α/麥格司他在總體群體中顯示出與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比具有名義統計學顯著性（p = 0.023）和有臨床意義的優勢差異。與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比，FVC的3.0%絕對改善幾乎與阿葡糖苷酶α相比於安慰劑的3期研究中觀察到的改善一樣大，並且根據醫學文獻，其幅度被認為對患者具有臨床意義。

【0583】 基於臨床相關變化閾值的患者水平反應者分析表明，在6MWD和FVC中觀察到的改善具有臨床意義。

【0584】 在經歷過ERT的亞組中，所有主要和關鍵的次要終點也顯示出改善並且定向有利於的西帕葡糖苷酶α/麥格司他，支持該群體中6MWD和預測FVC%的顯著結果。對6MWD和FVC的分析產生的p值分別為0.047和0.006。

【0585】 在較小的ERT初治群體中，兩個治療組的患者在絕大多數主要和關鍵次要終點方面均表現出改善，不同的終點在數值上有利於不同的治療組。

【0586】 使用主要終點6MWD和第一個關鍵次要終點FVC的事後全域測試在包括所有受試者在內的總體ITT群體中顯示出名義上的統計學意義（2側p = 0.022），並支持在所研究群體中分別對該等終點中的每一個終點觀察到的結果的顯著性。

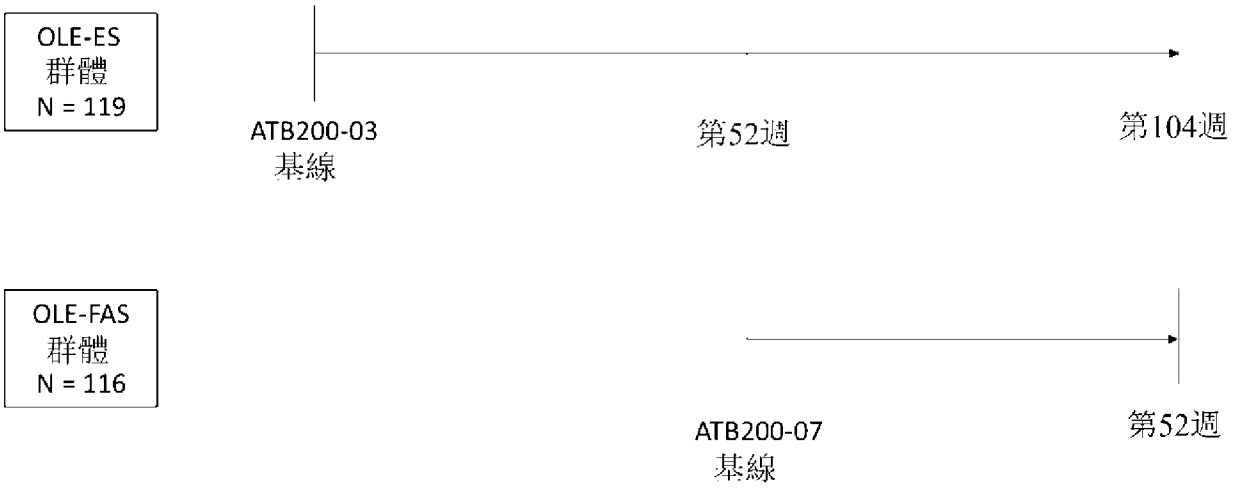
【0587】 在所有3個群體中，包括總體群體、經歷過ERT的群體和ERT初治群體，與阿葡糖苷酶α相比，西帕葡糖苷酶α/麥格司他對肌肉損傷（CK）和疾病底物（Hex4）生物標誌物的降低也明顯更大，其中西帕葡糖苷酶α/麥格司他組中兩種生物標誌物的名義p值為$p < 0.001$。

【0588】 總之，共同投與20 mg/kg IV輸注的西帕葡糖苷酶α和260 mg麥格司他導致龐貝氏病所有重要領域（肌肉力量、肺功能和運動功能以及PRO）相對於基線均有臨床顯著的和相關的改善。此外，在總體群體中，與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比，西帕葡糖苷酶α/麥格司他在整個重要的龐貝氏病領域中獲得的結果上係定向有利的。

**實例20：研究ATB200-07**

【0589】 本總結中呈現的分析群體為1) OLE-ES群體（符合資格要求（基於納入和排除標準）並進入研究ATB200-07的所有受試者，和2) OLE-FAS群體（所有進入OLE研究ATB200-07的受試者，該等受試者針對6個主要的功效終點

[6MWD、坐姿預測FVC %、MMT-下肢、PROMIS-身體功能、PROMIS-疲勞和GSGC]中的至少1個終點進行了有效的ATB200-07基線和至少1次基線後評估）。針對1) OLE-ES群體（不包括離群值）和2) OLE-FAS群體（來自研究ATB200-07基線）呈現6個主要功效終點的數據，如下所描繪。




【0590】 這係一項正在進行的開放標籤擴展研究，旨在評估西帕葡糖苷酶α/麥格司他在完成研究ATB200-03的成年LOPD受試者中的長期安全性和功效。

【0591】 截至2022年1月11日的中期數據截止日，在參加研究ATB200-03的123名受試者(85名用西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療;38名用阿葡糖苷酶α治療）中，共有117名受試者完成了研究，並且然後參加了研究ATB200-07。另外兩名受試者（1107-1681和2010-1352）沒有完成研究ATB200-03但參加了研究ATB200-07，使參加研究ATB200-07（OLE-ES群體）的受試者總數達到119（91名經歷過ERT和28名ERT初治）。

【0592】 如上所述，2名未完成研究ATB200-03的受試者參加了研究ATB200-07。由於SARS-Cov-2病毒（COVID-19）相關肺炎引起的2019冠狀病毒病的不良事件（AE），受試者1107-1681在ATB200-03研究中停用了西帕葡糖苷酶α/麥格司他，隨後參加了研究ATB200-07。受試者2010-1352由於對COVID-19的擔憂而不願前往研究網站，因此中止了研究ATB200-03，隨後參加了研究

ATB200-07。

【0593】在參加研究ATB200-07的119名受試者（OLE-ES群體）中，先前在研究ATB200-03中用西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療的85名受試者（西帕葡糖苷酶α/麥格司他組）中的82名（96.5%）受試者進入研究ATB200-07並繼續用西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療（被指定為西帕葡糖苷酶α/麥格司他-西帕葡糖苷酶α/麥格司他組），並且先前在研究ATB200-03中用阿葡糖苷酶α治療的38名受試者（阿葡糖苷酶α/安慰劑組）中的37名（97.4%）受試者進入研究ATB200-07並轉換為西帕葡糖苷酶α/麥格司他（被指定為阿葡糖苷酶α/安慰劑-西帕葡糖苷酶α/麥格司他組或治療轉換群體）。由於COVID-19大流行，西帕葡糖苷酶α/麥格司他組的一名受試者（受試者2024-1101）撤回了同意，並且從未在研究ATB200-07中給藥。因此，OLE安全性群體包括118名受試者。最後，2名受試者未提供有效基線和至少1項針對6個主要療效終點中至少1個的基線後評估；因此，OLE-FAS群體包括116名受試者。

【0594】截至數據截止日期（2022年1月11日），ATB200-07研究中OLE-FAS群體的流失率較低，共有11名（9.2%）給藥受試者提前退出研究。在西帕葡糖苷酶α/麥格司他-西帕葡糖苷酶α/麥格司他組早期停藥的7名受試者中，5名受試者撤回同意，1名受試者因AE停藥，1名受試者失訪。在阿葡糖苷酶α/安慰劑-西帕葡糖苷酶α/麥格司他組的4名受試者中，1名受試者撤回同意，2名受試者因AE停藥，1名受試者因病情惡化而停藥。

【0595】在研究ATB200-07中繼續用西帕葡糖苷酶α/麥格司他的受試者（西帕葡糖苷酶α/麥格司他-西帕葡糖苷酶α/麥格司他組）與從研究ATB200-03中的阿葡糖苷酶α/安慰劑轉換為研究ATB200-07中的西帕葡糖苷酶α/麥格司他的受試者（阿葡糖苷酶α/安慰劑-西帕葡糖苷酶α/麥格司他組）之間的基線人口統計特徵總體相似。每個受試者在研究ATB200-07中的ERT狀態基於研究

ATB200-03中基線時記錄的ERT狀態。在研究ATB200-07 OLE-FAS群體的116名受試者中，23.3%係ERT初治（n = 27），76.7%的受試者經歷過ERT（n = 89）。研究ATB200-03的每個治療組中經歷過ERT的受試或ERT初治受試者的百分比相似。兩個治療組中的大多數（67.4%）受試者均接受過≥5年的先前ERT治療（研究ATB200-03西帕葡糖苷酶α/麥格司他組中69.2%的受試者，和研究ATB200-03阿葡糖苷酶α/安慰劑組中63.3%的受試者）。

【0596】 功效數據作為研究ATB200-03（OLE-ES群體）的相對於基線的變化呈現在本總結中。研究ATB200-07（OLE-FAS群體）的基線數據以及經歷過ERT的群體和ERT初治群體的數據與對於總體OLE-ES群體觀察到的數據一致。

**6MWD和預測的6MWD %**

【0597】 如圖88所示，西帕葡糖苷酶α/麥格司他組中的受試者（該等受試者在研究ATB200-03中用西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療52週，並在研究ATB200-07中繼續用西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療額外52週）在研究ATB200-03期間顯示出改善，所述改善然後維持到第104週。阿葡糖苷酶α/安慰劑組中的受試者（該等受試者在研究ATB200-03中用阿葡糖苷酶α/安慰劑治療52週，並在研究ATB200-07中轉換為西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療52週）在用阿葡糖苷酶α至第52週期間顯示出與西帕葡糖苷酶α/麥格司他組相比較小的改善，然後在轉換為西帕葡糖苷酶α/麥格司他至第104週後，總體上穩定在低於西帕葡糖苷酶α/麥格司他組的水平。

**預測坐姿FVC %**

【0598】 如圖89所示，西帕葡糖苷酶α/麥格司他組中的受試者（該等受試者在研究ATB200-03中用西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療52週，並在研究ATB200-07中繼續用西帕葡糖苷酶α/麥格司他額外52週）在研究ATB200-03整個過程中相對於基線顯示出輕微的衰退，然後穩定至第104週。阿葡糖苷酶α/安慰

劑組中的受試者（該等受試者在研究ATB200-03中用阿葡糖苷酶α/安慰劑治療52週，並在研究ATB200-07中轉換為西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療52週）在用阿葡糖苷酶α至第52週期間顯示出與西帕葡糖苷酶α/麥格司他組相比較大的衰退，然後在轉換為西帕葡糖苷酶α/麥格司他至第104週後，總體上穩定在低於西帕葡糖苷酶α/麥格司他組的水平，其中在研究ATB200-07期間各次就診之間存在一些差異。

**其他主要的次要終點**

【0599】其他主要的終點（MMT下肢、PROMIS-身體功能、PROMIS-疲勞和GSGC）的結果與對於6MWD觀察到的結果基本一致。對於在研究ATB200-03和ATB200-07整個過程中接受西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療的受試者，MMT下肢、PROMIS-身體功能、PROMIS-疲勞和GSGC在研究ATB200-03整個過程中改善或保持穩定，然後在研究ATB200-07整個過程中穩定。對於在研究ATB200-03期間用阿葡糖苷酶α/安慰劑治療並在研究ATB200-07中轉換為西帕葡糖苷酶α/麥格司他的受試者，MMT下肢和PROMIS-疲勞顯示相對於研究ATB200-03基線略有改善，然後至第104週，要麼進一步改善，要麼穩定。從研究ATB200-03基線到研究ATB200-07，PROMIS-生理功能和GSGC總體保持穩定。

**藥效學**

【0600】從研究ATB200-03基線到第104週的PD標誌物CK和Hex4的平均變化的分析支持針對6個主要功效終點呈現的結果（圖90A和90B）。對於西帕葡糖苷酶α/麥格司他組中的受試者（該等受試者在研究ATB200-03中用西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療52週，並在研究ATB200-07中繼續用西帕葡糖苷酶α/麥格司他額外52週），CK（女性正常範圍：34至145 U/L；男性正常範圍：46至171 U/L）和Hex4（正常範圍：3.0 mmol/mol肌酐）至第52週都大幅衰退，然後在第52週至第104週穩定。對於阿葡糖苷酶α/安慰劑組中的受試者（該等受試者在研究

ATB200-03中用阿葡糖苷酶α/安慰劑治療52週，並在研究ATB200-07中轉換為西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療52週），CK至第52週總體上穩定在研究ATB200-03基線值或略微高於該基線值，然後在受試者從第52週至第104週轉換為西帕葡糖苷酶α/麥格司他後，大幅衰退。受試者接受阿葡糖苷酶α/安慰劑治療時Hex4從ATB200-03基線增加直到第52週，然後在受試者轉換為西帕葡糖苷酶α/麥格司他後減少直到第104週。

**結論**

【0601】 研究ATB200-07以及研究ATB200-02的功效數據提供了支持西帕葡糖苷酶α/麥格司他作用維持和持久的數據。表56係第52週（研究ATB200-07基線）和第104週（研究ATB200-07的第52週）相對於研究ATB200-03基線的變化的總結。

【0602】 在研究ATB200-03整個過程中，兩個治療組的6個主要終點（即6MWD、MMT下肢、PROMIS-身體功能、PROMIS-疲勞和GSGC得分）中的大多數保持穩定或改善。對於在研究ATB200-07整個過程中繼續用西帕葡糖苷酶α/麥格司他的受試者，使用西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療的益處得以維持。在研究ATB200-07中，從阿葡糖苷酶α/安慰劑轉換為西帕葡糖苷酶α/麥格司他的受試者在大多數終點上表現出穩定性或改善。對於在研究ATB200-07整個過程中繼續用西帕葡糖苷酶α/麥格司他的受試者，在研究ATB200-03整個過程中，預測坐姿FVC %相對於基線略有衰退，然後在研究ATB200-07整個過程中穩定。對於在研究ATB200-07中從阿葡糖苷酶α/安慰劑轉換為西帕葡糖苷酶α/麥格司他的受試者，在研究ATB200-03中預測坐姿FVC %顯示大幅衰退，然後在研究ATB200-07整個過程中穩定在較低水平。總體而言，該等結果支持西帕葡糖苷酶α/麥格司他對LOPD患者的益處。

【0603】 對於在研究ATB200-03和ATB200-07整個過程中接受西帕葡糖苷

酶α/麥格司他治療的OLE-ES群體中的受試者，CK和Hex4在研究ATB200-03整個過程中大幅衰退，然後在研究ATB200-07整個過程中穩定。對於在研究ATB200-07中轉換為西帕葡糖苷酶α/麥格司他的受試者，當受試者用阿葡糖苷酶α/安慰劑治療時，CK在至第52週總體上穩定在研究ATB200-03基線值或略微高於該基線值，然後在受試者轉換為西帕葡糖苷酶α/麥格司他後，至第104週大幅衰退。受試者接受阿葡糖苷酶α/安慰劑治療時Hex4的水平從研究ATB200-03基線增加直到第52週，然後在受試者轉換為西帕葡糖苷酶α/麥格司他後大幅減少直到第104週。

【0604】 對經歷過ERT的受試者和ERT初治受試者的分析支持總體群體的結果。

**[表56]：功效評估總結—研究ATB200-07中第52週和第104週時相對於研究ATB200-03基線的變化（OLE-ES群體，不包括受試者4005-2511）**

| 臨床反應評估（選定的功效和藥效學） | 平均（SD）基線和第52週和第104週相對於ATB200-03基線的變化 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（n = 82）[a] | | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（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（%預測） | 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） |
| PROMIS-身體功能 | 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） |

| 臨床反應評估（選定的功效和藥效學） | 平均（SD）基線和第52週和第104週相對於ATB200-03基線的變化 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（n = 82）[a] | | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（n = 36）[a] | | |
| | BSL | 52-wk CFB | 104-wk CFB | BSL | 52-wk CFB | 104-wk CFB |
| PROMIS-疲勞 | 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） |

縮寫：6MWD = 6分鐘步行距離；BSL = 基線；CFB = 相對於基線的變化；CK = 肌酸激酶；FVC = 用力肺活量；GSGC = 步態、樓梯、高爾斯動作和椅子測試；Hex4 = 已糖四糖；MMT = 徒手肌力測試；n = 受試者數量；PROMIS = 患者報告的結果測量資訊系統；wk = 週

注意：第52週 = 研究ATB200-07基線。

注意：對於PROMIS-疲勞和GSGC，減少表示改善。

[a] 在研究ATB200-03基線處的n。括弧中顯示了基線時n的任何差異。

**實例21：跨研究功效結果的比較**

【0605】本提交材料中包含的詳細功效結果係針對上述三項單獨研究呈現的。由於研究設計和方法的固有差異，表57和表58中研究ATB200-03/07和ATB200-02的功效比較僅限於6MWD和預測FVC %。研究ATB200-03/07的數據不包括離群值。請注意，阿葡糖苷酶α/西帕葡糖苷酶α組的數據代表先用阿葡糖

苷酶α/安慰劑治療12個月，然後再用西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療12個月。在研究ATB200-03中觀察到的以及在研究ATB200-07中保持的6MWD和預測FVC %的益處得到研究ATB200-02的定向一致結果的支持。請注意，在研究ATB200-02中觀察到的預測FVC %的改善發生在基線低於研究ATB200-03中那些的受試者中。

**[表57]：研究ATB200-03/07和ATB200-02中6MWD結果的比較**

| 群體 | 研究 | 治療 | N（在基線處） | 基線均數（SD） | CFBL M12（W52）均數（SD） | CFBL M24（W104）均數（SD） |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 經歷過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） |

縮寫：6MWD = 6分鐘步行距離；CFBL = 相對於基線的變化；ERT = 酶替代療法；M = 月；N = 每個治療組中的受試者數量；SD = 標準差；W = 週

[a] 佇列1和佇列4組合

[b] 佇列3

**[表58]：研究ATB200-03/07和ATB200-02中預測FVC %結果的比較**

| 群體 | 研究 | 治療 | N（在基線處） | 基線均數（SD） | CFBL M12（W52）均數（SD） | CFBL M24（W104）均數（SD） |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 經歷過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） |

縮寫：CFBL = 相對於基線的變化；ERT = 酶替代療法；FVC = 用力肺活量；M = 月；N = 治療組中的受試者數量；SD = 標準差；W = 週

[a] 佇列1和佇列4組合

[b] 佇列3

**綜合功效，包括離群值受試者**

【0606】本節中介紹的匯總功效分析包括離群值（匯總2）。該等匯總分析的結果與研究ATB200-03的結果一致。還進行了排除離群值受試者（匯總2A）的匯總功效分析。該等分析表明，西帕葡糖苷酶α/麥格司他組的6MWD改善和FVC穩定保持超過24個月。

**6MWT**

【0607】數據表明在接受西帕葡糖苷酶α/麥格司他的受試者中6MWD的初始改善保持大於基線至> 24個月。西帕葡糖苷酶α/麥格司他組的6MWD的平均（SD）改善在≤15個月時為17.1（44.92）米（n = 143），在> 15至≤24個月時為

17.7（55.61）米（n = 108），以及在> 24個月時為9.7（67.13）米（n = 70）。沒有阿葡糖苷酶α/安慰劑組的長期數據可用，因為在研究ATB200-07中所有受試者都轉換為西帕葡糖苷酶α/麥格司他。

【0608】 預測6MWD %的數據表明，在至少24個月的治療投與後接受西帕葡糖苷酶α/麥格司他的受試者具有相似的模式。西帕葡糖苷酶α/麥格司他組預測6MWD %的平均（SD）改善為3.3（10.84）（n = 70）。

【0609】 6MWD和預測6MWD %的改善高於基線維持超過24個月，包括或排除離群值。匯總的功效數據的按暴露時間區間的6MWD總結呈現在表59中，包括離群值。

**[表59]：按暴露時間區間的6MWD（米）的總結（匯總2：研究ATB200-02/03/07 - 包括離群值在內的功效群體）**

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 143） | | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 38） |
|---|---|---|---|---|
| | ≤ 15個月（N = 143） | > 15至≤ 24個月（N = 121） | > 24個月（N = 100） | ≤ 15個月（N = 38） |
| 基線[a] | | | | |
| n | 143 | 108 | 70 | 38 |
| 均數（SD） | 367.10 (120.278) | 366.33 (105.788) | 367.77 (105.001) | 350.14 (119.776) |
| 中值（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） |
| 相對於基線的變化[b] | | | | |
| n | 143 | 108 | 70 | 38 |
| 均數（SD） | 17.13 (44.916) | 17.67 (55.609) | 9.67 (67.129) | 16.40 (69.027) |
| 中值（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） |

縮寫：6MWD = 6分鐘步行距離；max = 最大值；min = 最小值；N = 每個治療組中的受試者數量；n = 具有可用數據的受試者數量；SAP = 統計分析計畫；SCE =

臨床功效總結；SD = 標準差

[a] 對於研究ATB200-02和ATB200-03，基線與研究基線相同。對於研究ATB200-07，研究ATB200-03的擴展，基線取決於受試者在研究ATB200-03中隨機分配到的治療組。詳細定義參見SCE SAP。

[b] 相對於基線的變化 = 最後一個可用的基線後值 - 基線值，不對缺失值進行插補

**肺功能**

【0610】數據表明接受西帕葡糖苷酶α/麥格司他的受試者在> 24個月時預測的FVC %略有下降，但下降幅度稍微更大。西帕葡糖苷酶α/麥格司他組FVC相對於基線的平均（SD）變化在≤15個月時為-0.74（6.121）（n = 139），在> 15至≤24個月時為-0.88（7.103）（n = 97），以及在> 24個月時為-2.55（8.393）（n = 68）。沒有阿葡糖苷酶α/安慰劑組的長期數據可用，因為在研究ATB200-07中所有受試者都轉換為西帕葡糖苷酶α/麥格司他。FVC的該等改善維持超過24個月，其中包括或排除離群值。匯總的功效數據的按暴露時間區間的預測坐姿FVC %的總結呈現在表60中，包括離群值。

**[表60]：按暴露時間區間的預測坐姿FVC %的總結（匯總2：研究ATB200-02/03/07 - 包括離群值在內的功效群體）**

| | **西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 143）** | | | **阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 38）** |
|---|---|---|---|---|
| | **≤ 15個月（N = 143）** | **> 15至≤ 24個月（N = 121）** | **> 24個月（N = 100）** | **≤ 15個月（N = 38）** |
| 基線[a] | | | | |
| n | 139 | 97 | 68 | 38 |
| 均數（SD） | 67.51 (19.836) | 66.89 (20.174) | 67.15 (19.174) | 70.04 (21.301) |
| 中值（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） |

| | 西帕葡糖苷酶α/麥格司他（N = 143） | | | 阿葡糖苷酶α/安慰劑（N = 38） |
|---|---|---|---|---|
| | ≤ 15個月（N = 143） | > 15至≤ 24個月（N = 121） | > 24個月（N = 100） | ≤ 15個月（N = 38） |
| 相對於基線的變化[b] | | | | |
| n | 139 | 97 | 68 | 38 |
| 均數（SD） | -0.74（6.121） | -0.88（7.103） | -2.55（8.393） | -3.64（5.170） |
| 中值（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） |

縮寫：FVC = 用力肺活量；max = 最大值；min = 最小值；N = 每個治療組中的受試者數量；n = 具有可用數據的受試者數量；SAP = 統計分析計畫；SCE = 臨床功效總結；SD = 標準差

[a] 對於研究ATB200-02和ATB200-03，基線與研究基線相同。對於研究ATB200-07，研究ATB200-03的擴展，基線取決於受試者在研究ATB200-03中隨機分配到的治療組。詳細定義參見SCE SAP。

[b] 相對於基線的變化 = 最後一個可用的基線後值 - 基線值，不對缺失值進行插補

**MMT**

【0611】數據表明，在接受西帕葡糖苷酶α/麥格司他的受試者中，MMT下肢得分相對於基線的初始改善維持超出 > 24個月。在暴露於 ≤ 15個月（n = 135）的受試者中，西帕葡糖苷酶α/麥格司他組的MMT下肢得分相對於基線的平均（SD）變化為1.36（3.807），> 15至 ≤ 24個月時為1.73（3.675）（n = 101），以及> 24個月時為1.98（4.527）（n = 65）。MMT的該等改善維持超過24個月，其中包括或排除離群值。

**GSGC**

【0612】數據表明，在接受西帕葡糖苷酶α/麥格司他的受試者中，GSGC

總得分相對於基線的初始改善維持並進一步改善超出 > 24個月。在暴露於 ≤ 15個月（n = 123）的受試者中，西帕葡糖苷酶α/麥格司他組的GSGC總得分相對於基線的平均（SD）變化為-0.51（2.947），> 15至≤24個月時為-0.86（3.086）（n = 87），以及 > 24個月時為-1.12（3.586）（n = 56）。請注意，負得分表示改善。GSGC的該等改善維持超過24個月，其中包括或排除離群值。

**亞組分析**

【0613】 按以下亞組和暴露時間區間（≤ 15個月、> 15至 ≤ 24個月、> 24個月）對匯總的療效數據進行分析：

- 性別：男性或女性
- ERT狀態（分類為經歷過ERT相比於ERT初治）
- 種族：白種人、日本人、亞洲人（不包括日本人）、黑人或非裔美國人和其他（或白種人、非白種人）
- 基線6MWD（分類為75至< 150米、150至< 400米和≥ 400米）
- 年齡：≥ 18至< 35歲，≥ 35至< 50歲，≥ 50至< 65歲，以及≥ 65歲
- 之前的ERT持續時間：≥ 2至< 3歲，≥ 3至< 5歲，≥ 5至< 8歲，以及≥ 8歲
- 之前的輸注相關反應：有和無

【0614】 亞組的功效結果與總體群體的結果基本一致。儘管許多亞組的樣本量有限，而且應仔細解釋結果，但下文指出了6MWD相對於基線的變化的在亞組之間的一些差異。對於種族，非白種人受試者太少無法解釋該等亞組分析。

【0615】 對於6MWD相對於基線的變化，男性和女性的結果之間沒有顯著差異，或者根據先前ERT暴露的持續時間或基於IAR的歷史，在經歷過ERT的受試者中沒有顯著差異。雖然CI有重疊，但一致觀察到，與經歷過ERT的受試者相比，ERT初治受試者的6MWD相對於基線的平均變化更大，對於暴露少於15個月的受試者（用西帕葡糖苷酶α/麥格司他或阿葡糖苷酶α/安慰劑），ERT亞組之

間存在明顯差異。同樣，雖然基線6MWD極低的受試者數量非常少，但一致觀察到基線6MWD較高的受試者比基線6MWD最低的受試者相對於基線的改善更大。跨年齡組的觀察結果也值得注意，觀察到隨著年齡的增加改善程度較低，最顯著的差異出現在最年長的年齡組，儘管≥ 65歲的受試者數量很少。

【0616】 對於預測FVC %相對於基線的變化，在男性和女性、經歷過ERT相比於ERT初治、基線6MWD、年齡類別，或在經歷過ERT的受試者之間，根據之前ERT暴露的持續時間或基於IAR的歷史，結果沒有顯著差異。

**實例23：功效和/或耐受性**

【0617】 ATB200-02、ATB200-03和ATB200-07研究的長期數據支持西帕葡糖苷酶α/麥格司他功效的持久性和持續性。對照研究ATB200-03的數據顯示從開始到第52週持續改善，跨研究綜合分析的數據顯示改善維持或持續> 24個月。研究ATB200-02表明改善可以維持或持續長達48個月。

【0618】 來自3項成人龐貝氏病臨床研究的功效數據被匯總和分析，以進一步支持西帕葡糖苷酶α/麥格司他在成人受試者中的長期功效。來自不能行走的受試者（研究ATB200-02佇列2）的數據未包括在匯總中，因為該組的功效終點（例如6MWD和下肢MMT）與各種能行走組幾乎沒有重疊。

【0619】 3項成人龐貝氏病臨床研究匯總如下：

- 西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療組由以下組成：
    - o 研究ATB200-02中的所有能行走受試者（佇列1、3和4），
    - o 在研究ATB200-03中，所有受試者隨機分配到西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療組，以及
    - o 所有受試者都參加了研究ATB200-07。
- 阿葡糖苷酶α/安慰劑治療組由以下組成：
    - o 在研究ATB200-03中，所有受試者隨機分配到ERT治療組。

【0620】 在研究ATB200-02、ATB200-03和ATB200-07中，共有151名患有LOPD的受試者暴露於西帕葡糖苷酶α/麥格司他。平均（SD）暴露持續時間為28.0（14.27）個月，105名受試者暴露超過24個月。任何受試者的最長西帕葡糖苷酶α/麥格司他暴露為64.9個月。請注意，所有完成研究ATB200-03的受試者都參加了研究ATB200-07，並繼續或開始用西帕葡糖苷酶α/麥格司他進行治療。

【0621】 研究ATB200-02的長期數據也支持，西帕葡糖苷酶α/麥格司他的作用係持久的並維持48個月。截至2021年12月13日的數據截止，共有29名受試者參加研究ATB200-02並接受治療，大多數受試者的暴露 ≥ 48個月。研究ATB200-02中主要龐貝氏病領域的功效結果總結見表26。簡而言之，無論ERT經歷如何，跨佇列在能行走受試者中在第一年觀察到的運動功能改善都得到了維持。治療還導致ERT初治受試者的PFT得到改善，而經歷過ERT的受試者的PFT則穩定或改善，無論能行走狀態如何（如藉由預測FVC %、MIP、MEP和SNIP所測量的），以及能行走和不能行走受試者的所有測試身體部位的肌肉力量的穩定或改善（如藉由MMT所測量的）。改善持續長達暴露的48個月。

【0622】 來自研究ATB200-03、研究ATB200-07的開放標籤擴展的長期數據支持西帕葡糖苷酶α/麥格司他的作用至少維持24個月。截至2022年1月11日的數據截止，共有118名受試者參加研究ATB200-07並接受治療，其中79名受試者的暴露 > 24個月。研究ATB200-07中主要龐貝氏病領域的功效結果總結見表56。簡而言之，在研究ATB200-03整個過程中，兩個治療組的6個主要終點（即6MWD、MMT下肢、PROMIS-身體功能、PROMIS-疲勞和GSGC得分）中的大多數保持穩定或改善。對於在研究ATB200-07整個過程中繼續用西帕葡糖苷酶α/麥格司他的受試者，使用西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療的益處得以維持。在研究ATB200-07中，從阿葡糖苷酶α/安慰劑轉換為西帕葡糖苷酶α/麥格司他的受試者在大多數終點上表現出穩定性或改善。對於坐姿預測FVC %，在研究ATB200-07

整個過程中繼續用西帕葡糖苷酶α/麥格司他的受試者在研究ATB200-03整個過程中顯示相對於基線略有衰退，然後在研究ATB200-07整個過程中穩定。在研究ATB200-07中從阿葡糖苷酶α/安慰劑轉換為西帕葡糖苷酶α/麥格司他的受試者在研究ATB200-03中顯示大幅衰退，然後在研究ATB200-07整個過程中穩定在較低水平。

【0623】 對於在研究ATB200-03和ATB200-07整個過程中接受西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療的OLE-ES群體中的受試者，CK和Hex4在研究ATB200-03整個過程中大幅衰退，然後在研究ATB200-07整個過程中穩定。對於在研究ATB200-07中轉換為西帕葡糖苷酶α/麥格司他的受試者，當受試者用阿葡糖苷酶α/安慰劑治療時，CK在至第52週總體上穩定在研究ATB200-03基線值或略微高於該基線值，然後在受試者轉換為西帕葡糖苷酶α/麥格司他後，至第104週大幅衰退。受試者接受阿葡糖苷酶α/安慰劑治療時Hex4的水平從研究ATB200-03基線增加直到第52週，然後在受試者轉換為西帕葡糖苷酶α/麥格司他後大幅減少直到第104週。

【0624】 跨研究ATB200-02、ATB200-03和ATB200-07的綜合功效分析表明，西帕葡糖苷酶α/麥格司他的作用係持久的並維持24個月。

**結論**

【0625】 龐貝症係一種單基因疾病，直接歸因於編碼GAA的基因突變以及由此導致的GAA缺乏，主要發生在心臟、骨骼肌和肝臟，導致溶酶體肝醣積累和相關疾病病理生理學。阿葡糖苷酶α已證明IV ERT連同rhGAA對龐貝氏病患者的臨床益處，顯示出FVC和其他參數的初步改善。然而，如上所述，在過去十年中，臨床證據表明，即使採用ERT治療，疾病負擔仍然很高，並且顯著發病率仍然存在。在初步改善後，許多接受阿葡糖苷酶α治療的患者繼續衰退，以至於他們需要行走支持和呼吸機支持。西帕葡糖苷酶α/麥格司他解決了重要的機制和

臨床未滿足的需求，需要更有效的療法來治療龐貝氏病。

【0626】 在關鍵研究ATB200-03中，在總體群體中，相比於阿葡糖苷酶α/安慰劑，評估運動功能、肺功能和肌肉力量的關鍵研究終點相對於基線有所改善並且有利於西帕葡糖苷酶α/麥格司他。接受西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療的受試者平均比基線多走21米，而接受阿葡糖苷酶α/安慰劑治療的受試者為7米，相差14米（p = 0.071）。

【0627】 在第一個關鍵次要終點（坐姿預測FVC %）上，用西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療的受試者表現出0.9%的絕對衰退，而阿葡糖苷酶α/安慰劑組表現出4.0%的絕對衰退，差異為3.0%，這在名義上具有統計學顯著性並且代表FVC的具有臨床意義的穩定（p = 0.023）。FVC方面相比於阿葡糖苷酶α/安慰劑的這種相對益處與在3期研究中觀察到阿葡糖苷酶α相比於安慰劑的益處幅度相似，並且根據醫學文獻中報導的最小臨床重要差異（MCID），該益處被認為對患者具有臨床意義。

【0628】 為了進一步支持西帕葡糖苷酶α/麥格司他對主要終點和關鍵次要終點（6MWD和FVC %）的治療效果的顯著性和一致性，進行了一項事後全域測試來評估西帕葡糖苷酶α/麥格司他相比於阿葡糖苷酶α/安慰劑的優勢。該全域測試表明，與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比，接受西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療的受試者有更大的改善（p = 0.010），並支持在所研究的不同群體中分別在每個終點上觀察到的結果。

【0629】 對於西帕葡糖苷酶α/麥格司他在6MWD和FVC方面觀察到的結果代表了與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比對患者具有臨床意義的改善。對於FVC，相對於阿葡糖苷酶α/安慰劑，用西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療的受試者的3%平均改善表明具有臨床意義的組水平改善，並且與阿葡糖苷酶α本身相比於安慰劑顯示出的具有臨床意義的改善幅度相似。另外的患者水平反應者分析表明，分別對

於6MWD（p = 0.018）和FVC（p = 0.011），以及對於6MWD和FVC兩者（p = 0.002），與用阿葡糖苷酶α/安慰劑治療的患者相比，用西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療的受試者中有更大比例的受試者有具有臨床意義的改善，並且更小比例的受試者有具有臨床意義的惡化。另外的敏感性分析表明，在一系列6MWD和FVC反應閾值中，與用阿葡糖苷酶α/安慰劑治療的受試者相比，用西帕葡糖苷酶α/麥格司他治療的受試者中有更大比例的受試者表現出具有臨床意義的改善，並且更小比例的受試者表現出具有臨床意義的惡化。包括運動功能和肌肉力量、肺功能以及PRO的另外的關鍵次要終點的結果支持所觀察到的6MWD和預測FVC %的改善，該等終點在數值上均有利於西帕葡糖苷酶α/麥格司他。GSGC係一項功能獨立性的綜合量度，表明西帕葡糖苷酶α/麥格司他與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比的優勢的名義上顯著改善（p = 0.009）。

【0630】 在有較高未滿足需求的經歷過ERT的群體中，與阿葡糖苷酶α相比，西帕葡糖苷酶α/麥格司他在6MWD（差值為17米；p = 0.047）和預測FVC %（差值為4.1%；p = 0.006）方面均顯示出具有臨床意義和名義上具有統計學顯著性的改善。繼續使用阿葡糖苷酶α的受試者表現出6MWD沒有變化並且FVC顯著衰退，而轉換為西帕葡糖苷酶α/麥格司他的受試者表現出6MWD的改善和FVC的穩定。對於ERT初治亞組，兩個治療組的受試者在6MWD和FVC變化方面表現出類似的有臨床意義的改善。

【0631】 在肌肉骨骼和評估運動功能、肌肉力量和PRO的其他幾個次要終點中，相比於阿葡糖苷酶α/安慰劑，絕大多數顯示出改善並且定向有利於西帕葡糖苷酶α/麥格司他，這支持主要和關鍵次要終點的觀察。簡而言之，與批准的療法阿葡糖苷酶α相比，西帕葡糖苷酶α/麥格司他改善了重要的龐貝氏病領域。此外，在肝醣減少（Hex4）和肌肉損傷（CK）的關鍵生物標誌物上，與阿葡糖苷酶α/安慰劑相比，觀察到名義上具有統計學顯著性（p < 0.001）的減少，證實了

強有力的機制性非臨床證據。來自研究ATB200-02和ATB200-07的數據與研究ATB200-03一致，並提供了效果持久性的有力證據，其中改善和穩定性持續超過24個月。總而言之，臨床研究的結果表明，西帕葡糖苷酶α/麥格司他滿足了治療龐貝氏病中對更有效的下一代療法的顯著需求。

【符號說明】

【0632】無

【生物材料寄存】

【0633】無

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing originalFreeTextLanguageCode="en"  dtdVersion="V1_3"
fileName="PITW-41309_SEQ_LIST.xml" softwareName="WIPO Sequence"
softwareVersion="2.3.0" productionDate="2023-08-28">
 <ApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>TW</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText>112116800</ApplicationNumberText>
  <FilingDate></FilingDate>
 </ApplicationIdentification>
 <ApplicantName languageCode="zh">美商阿米庫斯醫療股份有限公司</ApplicantName>
 <ApplicantNameLatin>Amicus Therapeutics, Inc.</ApplicantNameLatin>
 <InventorName languageCode="zh">巴斯傑</InventorName>
 <InventorNameLatin>BARTH, JAY</InventorNameLatin>
 <InventionTitle languageCode="zh">用於治療龐貝氏病的方法</InventionTitle>
 <SequenceTotalQuantity>6</SequenceTotalQuantity>
 <SequenceData sequenceIDNumber="1">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>952</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..952</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q13">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MGVRHPPCSHRLLAVCALVSLATAALLGHILLHDFLLVPRELSGSSPVLEETHPAHQQGASR
PGPRDAQAHPGRPRAVPTQCDVPPNSRFDCAPDKAITQEQCEARGCCYIPAKQGLQGAQMGQPWCFFPPSYPSYKLENLS
```

SSEMGYTATLTRTTPTFFPKDILTLRLDVMMETENRLHFTIKDPANRRYEVPLETPRVHSRAPSPLYSVEFSEEPFGVIV
HRQLDGRVLLNTTVAPLFFADQFLQLSTSLPSQYITGLAEHLSPLMLSTSWTRITLWNRDLAPTPGANLYGSHPFYLALE
DGGSAHGVFLLNSNAMDVVLQPSPALSWRSTGGILDVYIFLGPEPKSVVQQYLDVVGYPFMPPYWGLGFHLCRWGYSSTA
ITRQVVENMTRAHFPLDVQWNDLDYMDSRRDFTFNKDGFRDFPAMVQELHQGGRRYMMIVDPAISSSGPAGSYRPYDEGL
RRGVFITNETGQPLIGKVWPGSTAFPDFTNPTALAWWEDMVAEFHDQVPFDGMWIDMNEPSNFIRGSEDGCPNNELENPP
YVPGVVGGTLQAATICASSHQFLSTHYNLHNLYGLTEAIASHRALVKARGTRPFVISRSTFAGHGRYAGHWTGDVWSSWE
QLASSVPEILQFNLLGVPLVGADVCGFLGNTSEELCVRWTQLGAFYPFMRNHNSLLSLPQEPYSFSEPAQQAMRKALTLR
YALLPHLYTLFHQAHVAGETVARPLFLEFPKDSSTWTVDHQLLWGEALLITPVLQAGKAEVTGYFPLGTWYDLQTVPIEA
LGSLPPPPAAPREPAIHSEGQWVTLPAPLDTINVHLRAGYIIPLQGPGLTTTESRQQPMALAVALTKGGEARGELFWDDG
ESLEVLERGAYTQVIFLARNNTIVNELVRVTSEGAGLQLQKVTVLGVATAPQQVLSNGVPVSNFTYSPDTKVLDICVSLL
MGEQFLVSWC</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="2">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>3624</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..3624</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>unassigned RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q14">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>cagttgggaaagctgaggttgtcgccggggccgcgggtggaggtcggggatgaggcagcagg
taggacagtgacctcggtgacgcgaaggaccccggccacctctaggttctcctcgtccgcccgttgttcagcgagggagg
ctctgggcctgccgcagctgacggggaaactgaggcacggagcgggcctgtaggagctgtccaggccatctccaaccatg
gagtgaggcacccgccctgctcccaccggctcctggccgtctgcgccctcgtgtccttggcaaccgctgcactcctggg
gcacatcctactccatgatttcctgctggttccccgagagctgagtggctcctccccagtcctggaggagactcacccag
ctcaccagcagggagccagcagaccagggccccgggatgcccaggcacaccccggccgtcccagagcagtgcccacacag

tgcgacgtcccccccaacagccgcttcgattgcgcccctgacaaggccatcacccaggaacagtgcgaggcccgcggctg
ctgctacatccctgcaaagcaggggctgcagggagcccagatggggcagccctggtgcttcttcccacccagctacccca
gctacaagctggagaacctgagctcctctgaaatgggctacacggccaccctgacccgtaccacccccaccttcttcccc
aaggacatcctgaccctgcggctggacgtgatgatggagactgagaaccgcctccacttcacgatcaaagatccagctaa
caggcgctacgaggtgcccttggagaccccgcgtgtccacagccgggcaccgtccccactctacagcgtggagttctccg
aggagcccttcggggtgatcgtgcaccggcagctggacggccgcgtgctgctgaacacgacggtggcgcccctgttcttt
gcggaccagttccttcagctgtccacctcgctgccctcgcagtatatcacaggcctcgccgagcacctcagtcccctgat
gctcagcaccagctggaccaggatcaccctgtggaaccgggaccttgcgcccacgcccggtgcgaacctctacgggtctc
acccttttctacctggcgctggaggacggcgggtcggcacacggggtgttcctgctaaacagcaatgccatggatgtggtc
ctgcagccgagccctgcccttagctggaggtcgacaggtgggatcctggatgtctacatcttcctgggcccagagcccaa
gagcgtggtgcagcagtacctggacgttgtgggatacccgttcatgccgccatactggggcctgggcttccacctgtgcc
gctggggctactcctccaccgctatcacccgccaggtggtggagaacatgaccagggcccacttccccctggacgtccaa
tggaacgacctggactacatggactcccggagggacttcacgttcaacaaggatggcttccgggacttcccggccatggt
gcaggagctgcaccagggcggccggcgctacatgatgatcgtggatcctgccatcagcagctcgggccctgccgggagct
acaggccctacgacgagggtctgcggaggggggttttcatcaccaacgagaccggccagccgctgattgggaaggtatgg
cccgggtccactgccttccccgacttcaccaaccccacagccctggcctggtgggaggacatggtggctgagttccatga
ccaggtgcccttcgacggcatgtggattgacatgaacgagccttccaacttcatcagaggctctgaggacggctgcccca
acaatgagctggagaacccaccctacgtgcctggggtggttgggggggaccctccaggcggccaccatctgtgcctccagc
caccagtttctctccacacactacaacctgcacaacctctacggcctgaccgaagccatcgcctcccacagggcgctggt
gaaggctcgggggacacgcccatttgtgatctcccgctcgacctttgctggccacggccgatacgccggccactggacgg
gggacgtgtggagctcctgggagcagctcgcctcctccgtgccagaaatcctgcagtttaacctgctgggggtgcctctg
gtcggggccgacgtctgcggcttcctgggcaacacctcagaggagctgtgtgtgcgctggacccagctgggggccttcta
ccccttcatgcggaaccacaacagcctgctcagtctgccccaggagccgtacagcttcagcgagccggcccagcaggcca
tgaggaaggccctcaccctgcgctacgcactcctcccccacctctacacactgttccaccaggcccacgtcgcgggggag
accgtggcccggcccctcttcctggagttccccaaggactctagcacctggactgtggaccaccagctcctgtgggggga
ggccctgctcatcaccccagtgctccaggccgggaaggccgaagtgactggctacttccccttgggcacatggtacgacc
tgcagacggtgccaatagaggcccttggcagcctcccacccccacctgcagctccccgtgagccagccatccacagcgag
gggcagtgggtgacgctgccggcccccctggacaccatcaacgtccacctccgggctgggtacatcatccccctgcaggg
ccctggcctcacaaccacagagtcccgccagcagcccatggccctggctgtggccctgaccaagggtggagaggcccgag
gggagctgttctgggacgatggagagagcctggaagtgctggagcgaggggcctacacacaggtcatcttcctggccagg
aataacacgatcgtgaatgagctggtacgtgtgaccagtgagggagctggcctgcagctgcagaaggtgactgtcctggg
cgtggccacggcgccccagcaggtcctctccaacggtgtccctgtctccaacttcacctacagccccgacaccaaggtcc
tggacatctgtgtctcgctgttgatgggagagcagtttctcgtcagctggtgttagccgggcggagtgtgttagtctctc
cagagggaggctggttccccagggaagcagagcctgtgtgcgggcagcagctgtgtgcgggcctgggggttgcatgtgtc
acctggagctgggcactaaccattccaagccgccgcatcgcttgtttccacctcctgggccggggctctggcccccaacg
tgtctaggagagctttctccctagatcgcactgtgggccggggcctggagggctgctctgtgttaataagattgtaaggt
ttgccctcctcacctgttgccggcatgcgggtagtattagccacccccctccatctgttcccagcaccggagaaggggct
gctcaggtggaggtgtggggtatgcacctgagctcctgcttcgcgcctgctgctctgccccaacgcgaccgcttcccggc
tgcccagagggctggatgcctgccggtccccgagcaagcctgggaactcaggaaaattcacaggacttgggagattctaa
atcttaagtgcaattattttaataaaaggggcatttggaatc</INSDSeq_sequence>

```
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="3">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>952</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..952</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q15">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MGVRHPPCSHRLLAVCALVSLATAALLGHILLHDFLLVPRELSGSSPVLEETHPAHQQGASR
PGPRDAQAHPGRPRAVPTQCDVPPNSRFDCAPDKAITQEQCEARGCCYIPAKQGLQGAQMGQPWCFFPPSYPSYKLENLS
SSEMGYTATLTRTTPTFFPKDILTLRLDVMMETENRLHFTIKDPANRRYEVPLETPRVHSRAPSPLYSVEFSEEPFGVIV
HRQLDGRVLLNTTVAPLFFADQFLQLSTSLPSQYITGLAEHLSPLMLSTSWTRITLWNRDLAPTPGANLYGSHPFYLALE
DGGSAHGVFLLNSNAMDVVLQPSPALSWRSTGGILDVYIFLGPEPKSVVQQYLDVVGYPFMPPYWGLGFHLCRWGYSSTA
ITRQVVENMTRAHFPLDVQWNDLDYMDSRRDFTFNKDGFRDFPAMVQELHQGGRRYMMIVDPAISSSGPAGSYRPYDEGL
RRGVFITNETGQPLIGKVWPGSTAFPDFTNPTALAWWEDMVAEFHDQVPFDGMWIDMNEPSNFIRGSEDGCPNNELENPP
YVPGVVGGTLQAATICASSHQFLSTHYNLHNLYGLTEAIASHRALVKARGTRPFVISRSTFAGHGRYAGHWTGDVWSSWE
QLASSVPEILQFNLLGVPLVGADVCGFLGNTSEELCVRWTQLGAFYPFMRNHNSLLSLPQEPYSFSEPAQQAMRKALTLR
YALLPHLYTLFHQAHVAGETVARPLFLEFPKDSSTWTVDHQLLWGEALLITPVLQAGKAEVTGYFPLGTWYDLQTVPIEA
LGSLPPPPAAPREPAIHSEGQWVTLPAPLDTINVHLRAGYIIPLQGPGLTTTESRQQPMALAVALTKGGEARGELFWDDG
ESLEVLERGAYTQVIFLARNNTIVNELVRVTSEGAGLQLQKVTVLGVATAPQQVLSNGVPVSNFTYSPDTKVLDICVSLL
MGEQFLVSWC</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="4">
```

```
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>952</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..952</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q16">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MGVRHPPCSHRLLAVCALVSLATAALLGHILLHDFLLVPRELSGSSPVLEETHPAHQQGASR
PGPRDAQAHPGRPRAVPTQCDVPPNSRFDCAPDKAITQEQCEARGCCYIPAKQGLQGAQMGQPWCFFPPSYPSYKLENLS
SSEMGYTATLTRTTPTFFPKDILTLRLDVMMETENRLHFTIKDPANRRYEVPLETPHVHSRAPSPLYSVEFSEEPFGVIV
RRQLDGRVLLNTTVAPLFFADQFLQLSTSLPSQYITGLAEHLSPLMLSTSWTRITLWNRDLAPTPGANLYGSHPFYLALE
DGGSAHGVFLLNSNAMDVVLQPSPALSWRSTGGILDVYIFLGPEPKSVVQQYLDVVGYPFMPPYWGLGFHLCRWGYSSTA
ITRQVVENMTRAHFPLDVQWNDLDYMDSRRDFTFNKDGFRDFPAMVQELHQGGRRYMMIVDPAISSSGPAGSYRPYDEGL
RRGVFITNETGQPLIGKVWPGSTAFPDFTNPTALAWWEDMVAEFHDQVPFDGMWIDMNEPSNFIRGSEDGCPNNELENPP
YVPGVVGGTLQAATICASSHQFLSTHYNLHNLYGLTEAIASHRALVKARGTRPFVISRSTFAGHGRYAGHWTGDVWSSWE
QLASSVPEILQFNLLGVPLVGADVCGFLGNTSEELCVRWTQLGAFYPFMRNHNSLLSLPQEPYSFSEPAQQAMRKALTLR
YALLPHLYTLFHQAHVAGETVARPLFLEFPKDSSTWTVDHQLLWGEALLITPVLQAGKAEVTGYFPLGTWYDLQTVPVEA
LGSLPPPPAAPREPAIHSEGQWVTLPAPLDTINVHLRAGYIIPLQGPGLTTTESRQQPMALAVALTKGGEARGELFWDDG
ESLEVLERGAYTQVIFLARNNTIVNELVRVTSEGAGLQLQKVTVLGVATAPQQVLSNGVPVSNFTYSPDTKVLDICVSLL
MGEQFLVSWC</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="5">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>896</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..896</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q17">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QQGASRPGPRDAQAHPGRPRAVPTQCDVPPNSRFDCAPDKAITQEQCEARGCCYIPAKQGLQ
GAQMGQPWCFFPPSYPSYKLENLSSSEMGYTATLTRTTPTFFPKDILTLRLDVMMETENRLHFTIKDPANRRYEVPLETP
RVHSRAPSPLYSVEFSEEPFGVIVHRQLDGRVLLNTTVAPLFFADQFLQLSTSLPSQYITGLAEHLSPLMLSTSWTRITL
WNRDLAPTPGANLYGSHPFYLALEDGGSAHGVFLLNSNAMDVVLQPSPALSWRSTGGILDVYIFLGPEPKSVVQQYLDVV
GYPFMPPYWGLGFHLCRWGYSSTAITRQVVENMTRAHFPLDVQWNDLDYMDSRRDFTFNKDGFRDFPAMVQELHQGGRRY
MMIVDPAISSSGPAGSYRPYDEGLRRGVFITNETGQPLIGKVWPGSTAFPDFTNPTALAWWEDMVAEFHDQVPFDGMWID
MNEPSNFIRGSEDGCPNNELENPPYVPGVVGGTLQAATICASSHQFLSTHYNLHNLYGLTEAIASHRALVKARGTRPFVI
SRSTFAGHGRYAGHWTGDVWSSWEQLASSVPEILQFNLLGVPLVGADVCGFLGNTSEELCVRWTQLGAFYPFMRNHNSLL
SLPQEPYSFSEPAQQAMRKALTLRYALLPHLYTLFHQAHVAGETVARPLFLEFPKDSSTWTVDHQLLWGEALLITPVLQA
GKAEVTGYFPLGTWYDLQTVPIEALGSLPPPPAAPREPAIHSEGQWVTLPAPLDTINVHLRAGYIIPLQGPGLTTTESRQ
QPMALAVALTKGGEARGELFWDDGESLEVLERGAYTQVIFLARNNTIVNELVRVTSEGAGLQLQKVTVLGVATAPQQVLS
NGVPVSNFTYSPDTKVLDICVSLLMGEQFLVSWC</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="6">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>896</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
      <INSDFeature_location>1..896</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q18">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QQGASRPGPRDAQAHPGRPRAVPTQCDVPPNSRFDCAPDKAITQEQCEARGCCYIPAKQGLQ
GAQMGQPWCFFPPSYPSYKLENLSSSEMGYTATLTRTTPTFFPKDILTLRLDVMMETENRLHFTIKDPANRRYEVPLETP
HVHSRAPSPLYSVEFSEEPFGVIVRRQLDGRVLLNTTVAPLFFADQFLQLSTSLPSQYITGLAEHLSPLMLSTSWTRITL
WNRDLAPTPGANLYGSHPFYLALEDGGSAHGVFLLNSNAMDVVLQPSPALSWRSTGGILDVYIFLGPEPKSVVQQYLDVV
GYPFMPPYWGLGFHLCRWGYSSTAITRQVVENMTRAHFPLDVQWNDLDYMDSRRDFTFNKDGFRDFPAMVQELHQGGRRY
MMIVDPAISSSGPAGSYRPYDEGLRRGVFITNETGQPLIGKVWPGSTAFPDFTNPTALAWWEDMVAEFHDQVPFDGMWID
MNEPSNFIRGSEDGCPNNELENPPYVPGVVGGTLQAATICASSHQFLSTHYNLHNLYGLTEAIASHRALVKARGTRPFVI
SRSTFAGHGRYAGHWTGDVWSSWEQLASSVPEILQFNLLGVPLVGADVCGFLGNTSEELCVRWTQLGAFYPFMRNHNSLL
SLPQEPYSFSEPAQQAMRKALTLRYALLPHLYTLFHQAHVAGETVARPLFLEFPKDSSTWTVDHQLLWGEALLITPVLQA
GKAEVTGYFPLGTWYDLQTVPVEALGSLPPPPAAPREPAIHSEGQWVTLPAPLDTINVHLRAGYIIPLQGPGLTTTESRQ
QPMALAVALTKGGEARGELFWDDGESLEVLERGAYTQVIFLARNNTIVNELVRVTSEGAGLQLQKVTVLGVATAPQQVLS
NGVPVSNFTYSPDTKVLDICVSLLMGEQFLVSWC</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```

# 【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種在患有龐貝氏病的受試者中相對於基線使肌肉力量、運動功能、肺功能或藥效學量度中的一個或多個量度改善和/或穩定持續大於24個月之方法，該方法包括與酶穩定劑同時或依次地向該受試者投與重組人酸性α-葡糖苷酶（rhGAA）分子群，

其中每個rhGAA分子包含七個潛在N-醣基化位點，並且該rhGAA分子在第一潛在N-醣基化位點處包含至少0.5 mol雙-甘露糖-6-磷酸（雙-M6P）/mol rhGAA。

【請求項2】 如請求項1所述之方法，其中該量度得到改善和/或穩定持續大於36個月。

【請求項3】 如請求項1或2所述之方法，其中該量度得到改善和/或穩定持續至少48個月。

【請求項4】 如請求項1-3中任一項所述之方法，其中該第一潛在醣基化位點處的雙-M6P數量由LC MS/MS確定。

【請求項5】 如請求項1-4中任一項所述之方法，其中該量度相對於基線改善持續第一時間段，並穩定持續第二時間段。

【請求項6】 如請求項1-5中任一項所述之方法，其中該受試者係經歷過酶替代療法（ERT）的受試者。

【請求項7】 如請求項1-5中任一項所述之方法，其中該受試者係酶替代療法（ERT）初治受試者。

【請求項8】 如請求項1-7中任一項所述之方法，其中藉由徒手肌力測試（MMT）測量肌肉力量。

【請求項9】 如請求項1-8中任一項所述之方法，其中在大於24個月的治療後，肌肉力量得分相對於基線改善至少1.5、2.0或2.5。

【請求項10】 如請求項1-9中任一項所述之方法，其中藉由6分鐘步行測試測量運動功能。

【請求項11】 如請求項1-10中任一項所述之方法，其中該受試者經歷過ERT，並且在大於24個月的治療後，運動功能相對於基線改善至少15、20或25米。

【請求項12】 如請求項1-11中任一項所述之方法，其中該受試者係ERT初治，並且在大於24個月的治療後，運動功能相對於基線改善至少30、40或50米。

【請求項13】 如請求項1-12中任一項所述之方法，其中藉由坐姿用力肺活量（FVC）測試測量肺功能。

【請求項14】 如請求項1-13中任一項所述之方法，其中在大於24個月的治療後，該受試者的預測FVC百分比與基線相比穩定。

【請求項15】 如請求項1-14中任一項所述之方法，其中該經歷過ERT的受試者先前已用阿葡糖苷酶α治療。

【請求項16】 如請求項1-15中任一項所述之方法，其中該經歷過ERT的受試者先前已用阿葡糖苷酶α治療約2年至約6年。

【請求項17】 如請求項1-15中任一項所述之方法，其中該經歷過ERT的受試者先前已用阿葡糖苷酶α治療至少約7年。

【請求項18】 如請求項1-17中任一項所述之方法，其中該受試者不能行走。

【請求項19】 如請求項1-17中任一項所述之方法，其中該受試者能行走。

【請求項20】 如請求項1-19中任一項所述之方法，其中該藥效學量度係肌酸激酶（CK）或尿己糖四糖（Hex4）。

【請求項21】 如請求項1-20中任一項所述之方法，其中該rhGAA分子群以5 mg/kg至40 mg/kg的劑量投與。

【請求項22】 如請求項1-21中任一項所述之方法，其中該rhGAA分子群以20

mg/kg的劑量投與。

【請求項23】 如請求項1-22中任一項所述之方法，其中該rhGAA分子群每兩週投與一次。

【請求項24】 如請求項1-23中任一項所述之方法，其中該rhGAA分子群靜脈內投與。

【請求項25】 如請求項1-24中任一項所述之方法，其中該酶穩定劑係麥格司他或其藥學上可接受的鹽。

【請求項26】 如請求項25所述之方法，其中該麥格司他或其藥學上可接受的鹽口服投與。

【請求項27】 如請求項25或26所述之方法，其中該麥格司他或其藥學上可接受的鹽以195 mg或260 mg的劑量投與。

【請求項28】 如請求項25-27中任一項所述之方法，其中該麥格司他或其藥學上可接受的鹽在投與該rhGAA分子群之前投與。

【請求項29】 如請求項25-28中任一項所述之方法，其中該麥格司他或其藥學上可接受的鹽在投與該rhGAA分子群之前一小時投與。

【請求項30】 如請求項25-29中任一項所述之方法，其中該受試者在投與麥格司他或其藥學上可接受的鹽之前禁食至少兩小時並且在投與麥格司他或其藥學上可接受的鹽之後禁食至少兩小時。

【請求項31】 如請求項1-30中任一項所述之方法，其中該rhGAA分子包含與SEQ ID NO: 4至少90%相同的胺基酸序列。

【請求項32】 如請求項1-31中任一項所述之方法，其中該rhGAA分子包含與SEQ ID NO: 6至少98%相同的胺基酸序列。

【請求項33】 如請求項1-32中任一項所述之方法，其中該rhGAA分子包含SEQ ID NO: 4或SEQ ID NO: 6的胺基酸序列。

【請求項34】 如請求項1-33中任一項所述之方法，其中該rhGAA分子上40%-60%的N-聚糖係複合型N-聚糖。

【請求項35】 如請求項1-34中任一項所述之方法，其中至少30%的該rhGAA分子包含一個或多個帶有一個甘露糖-6-磷酸殘基（單-M6P）或雙-M6P的N-聚糖單元。

【請求項36】 如請求項1-35中任一項所述之方法，其中該rhGAA分子包含平均0.5 mol至7.0 mol單-M6P或雙-M6P/mol rhGAA。

【請求項37】 如請求項1-36中任一項所述之方法，其中該rhGAA分子包含平均2.0至8.0 mol唾液酸/mol rhGAA。

【請求項38】 如請求項1-37中任一項所述之方法，其中該rhGAA分子包含平均至少2.5 mol M6P/mol rhGAA和至少4 mol唾液酸/mol rhGAA。

【請求項39】 如請求項1-38中任一項所述之方法，其中，每mol rhGAA，該rhGAA分子包含：

(a) 在第二潛在N-醣基化位點處的平均0.4至0.6 mol單-M6P；

(b) 在第四潛在N-醣基化位點處的平均0.4至0.6 mol雙-M6P；或

(c) 在第四潛在N-醣基化位點處的平均0.3至0.4 mol單-M6P。

【請求項40】 如請求項39所述之方法，其中，每mol rhGAA，該rhGAA分子進一步包含4 mol至7.3 mol唾液酸，

其中，每mol rhGAA，該rhGAA分子包含：

(a) 在第三潛在N-醣基化位點處的平均0.9至1.2 mol唾液酸；

(b) 在第五潛在N-醣基化位點處的平均0.8至0.9 mol唾液酸；或

(c) 在第六潛在N-醣基化位點處的平均1.5至4.2 mol唾液酸。

【請求項41】 如請求項1-40中任一項所述之方法，其中該rhGAA分子群被配製在進一步包含至少一種藥學上可接受的緩衝液、賦形劑或載劑的藥物組成物

中。

【請求項42】 如請求項41所述之方法，其中該藥物組成物進一步包含至少一種選自由檸檬酸鹽、磷酸鹽及其組合組成之群組的緩衝液，以及至少一種選自由甘露醇、聚山梨酯80及其組合組成之群組的賦形劑；其中該藥物組成物具有5.0至7.0的pH。

【請求項43】 如請求項41或42所述之方法，其中該藥物組成物具有5.0至6.0的pH。

【請求項44】 如請求項41-43中任一項所述之方法，其中該藥物組成物進一步包含水、酸化劑、鹼化劑或其組合。

【請求項45】 如請求項41-44中任一項所述之方法，其中，在該藥物組成物中，該rhGAA分子群以5-50 mg/mL的濃度存在，該至少一種緩衝液係以10-100 mM的濃度存在的檸檬酸鈉緩衝液，該至少一種賦形劑係以10-50 mg/mL的濃度存在的甘露醇和以0.1-1 mg/mL的濃度存在的聚山梨酯80，並且該藥物組成物進一步包含水以及視需要包含酸化劑和/或鹼化劑；其中該藥物組成物具有6.0的pH。

【請求項46】 如請求項41-45中任一項所述之方法，其中，在該藥物組成物中，該rhGAA分子群以15 mg/mL的濃度存在，該檸檬酸鈉緩衝液以25 mM的濃度存在，該甘露醇以20 mg/mL的濃度存在，並且該聚山梨酯80以0.5 mg/mL的濃度存在。

【請求項47】 如請求項1-46中任一項所述之方法，其中該rhGAA由中國倉鼠卵巢（CHO）細胞產生。

【請求項48】 如請求項1-47中任一項所述之方法，其中該rhGAA分子上總N-聚糖單元的至少6%係帶有單-M6P殘基的聚糖。

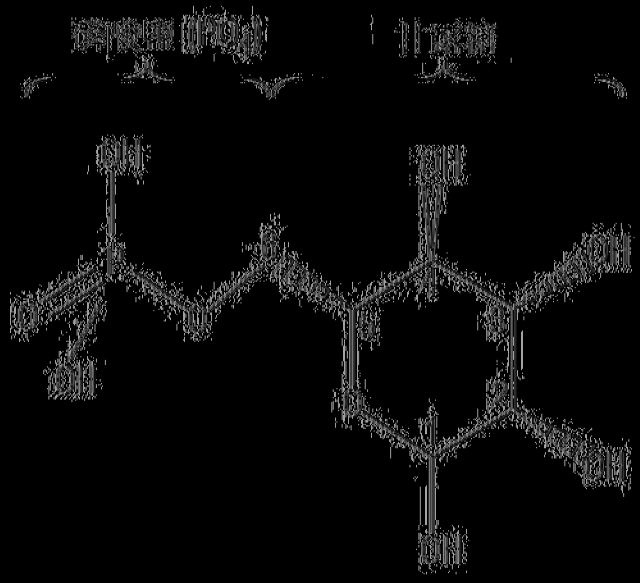
【請求項49】 如請求項1-48中任一項所述之方法，其中該rhGAA分子上總N-

聚糖單元的至少3%係帶有雙-M6P殘基的聚糖。

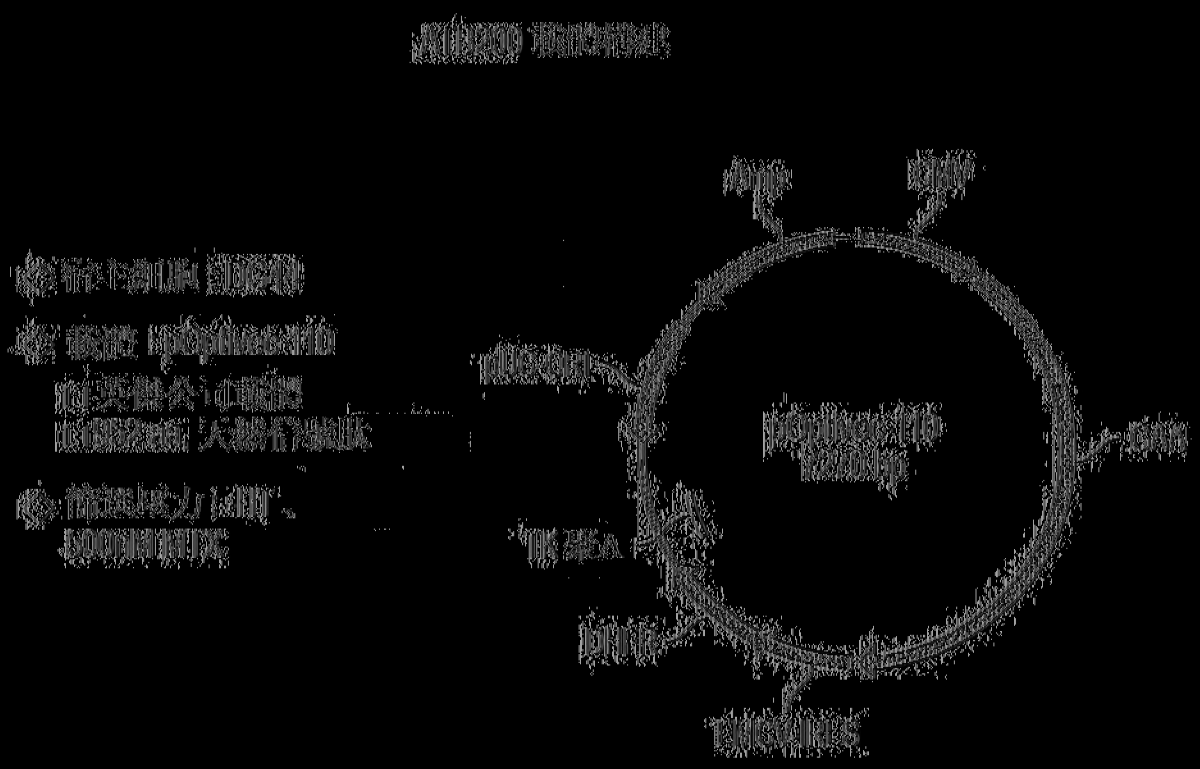
【請求項50】 如請求項1-49中任一項所述之方法，其中該rhGAA分子上總N-聚糖的高達55%係唾液酸化的複合聚糖。

# [發明圖式]

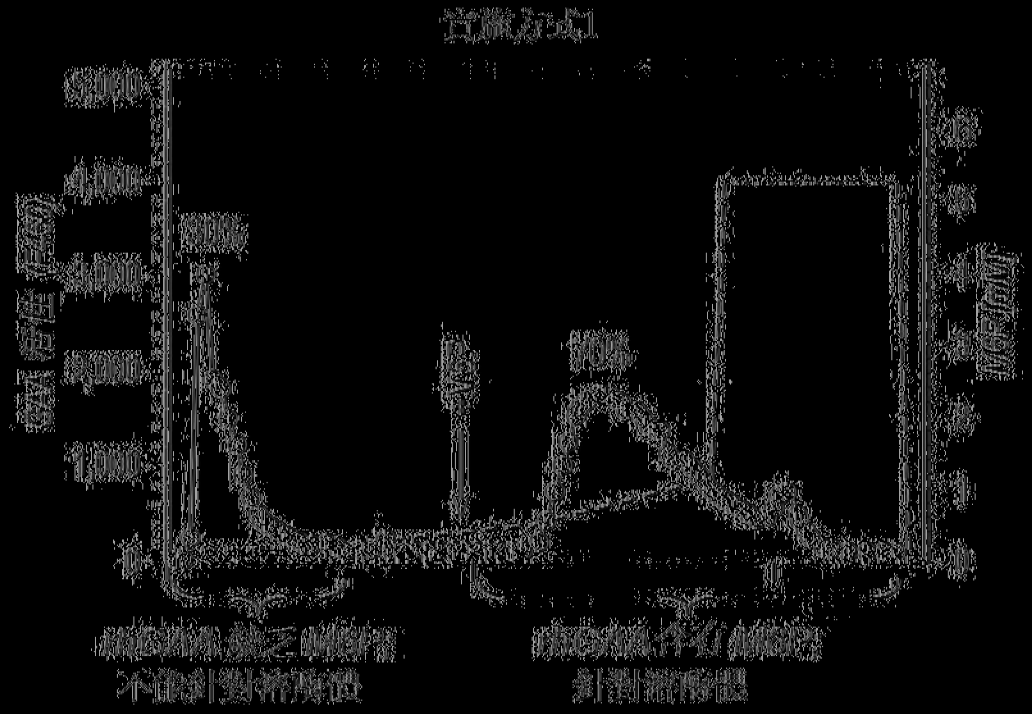
[圖1A]

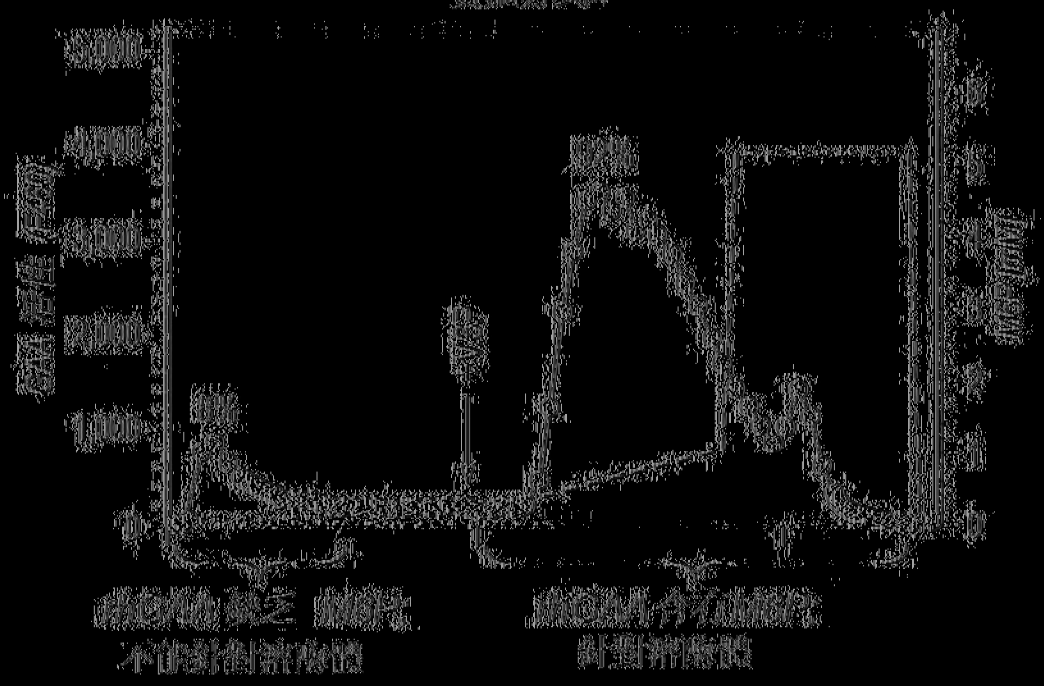


[圖1B]



（圖4）



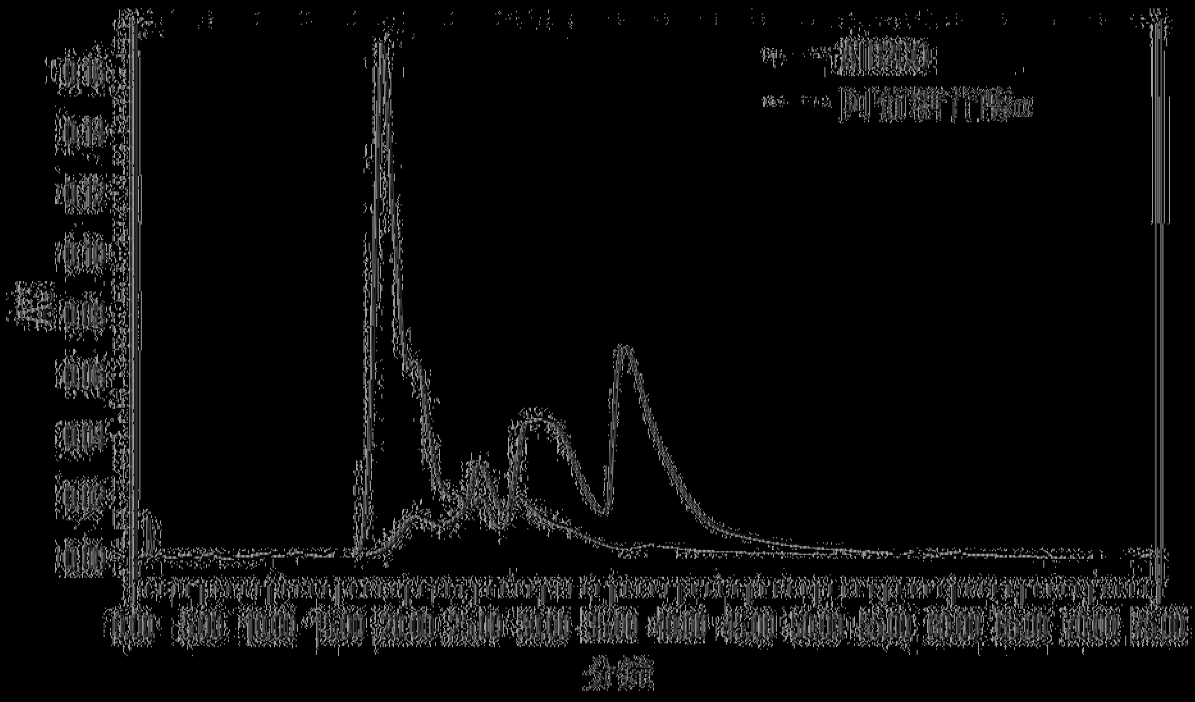

（圖5）

2024002.12.

圖 6(c)

第一通訊單元
第二通訊單元
第三通訊單元
第四通訊單元
第五通訊單元
第六通訊單元
第七通訊單元
第八通訊單元
第九通訊單元
第十通訊單元
第十一通訊單元
第十二通訊單元
第十三通訊單元
第十四通訊單元
第十五通訊單元
第十六通訊單元
第十七通訊單元
第十八通訊單元
第十九通訊單元
第二十通訊單元
第二十一通訊單元
第二十二通訊單元
第二十三通訊單元
第二十四通訊單元
第二十五通訊單元
第二十六通訊單元
第二十七通訊單元
第二十八通訊單元
第二十九通訊單元
第三十通訊單元
第三十一通訊單元
第三十二通訊單元
第三十三通訊單元
第三十四通訊單元
第三十五通訊單元
第三十六通訊單元
第三十七通訊單元
第三十八通訊單元
第三十九通訊單元
第四十通訊單元
第四十一通訊單元
第四十二通訊單元
第四十三通訊單元
第四十四通訊單元
第四十五通訊單元
第四十六通訊單元
第四十七通訊單元
第四十八通訊單元
第四十九通訊單元
第五十通訊單元
第五十一通訊單元
第五十二通訊單元
第五十三通訊單元
第五十四通訊單元
第五十五通訊單元
第五十六通訊單元
第五十七通訊單元
第五十八通訊單元
第五十九通訊單元
第六十通訊單元
第六十一通訊單元
第六十二通訊單元
第六十三通訊單元
第六十四通訊單元
第六十五通訊單元
第六十六通訊單元
第六十七通訊單元
第六十八通訊單元
第六十九通訊單元
第七十通訊單元
第七十一通訊單元
第七十二通訊單元
第七十三通訊單元
第七十四通訊單元
第七十五通訊單元
第七十六通訊單元
第七十七通訊單元
第七十八通訊單元
第七十九通訊單元
第八十通訊單元
第八十一通訊單元
第八十二通訊單元
第八十三通訊單元
第八十四通訊單元
第八十五通訊單元
第八十六通訊單元
第八十七通訊單元
第八十八通訊單元
第八十九通訊單元
第九十通訊單元
第九十一通訊單元
第九十二通訊單元
第九十三通訊單元
第九十四通訊單元
第九十五通訊單元
第九十六通訊單元
第九十七通訊單元
第九十八通訊單元
第九十九通訊單元
第一百通訊單元
第一百一通訊單元
第一百二通訊單元
第一百三通訊單元
第一百四通訊單元
第一百五通訊單元
第一百六通訊單元
第一百七通訊單元
第一百八通訊單元
第一百九通訊單元
第一百十通訊單元
第一百十一通訊單元
第一百十二通訊單元
第一百十三通訊單元
第一百十四通訊單元
第一百十五通訊單元
第一百十六通訊單元
第一百十七通訊單元
第一百十八通訊單元
第一百十九通訊單元
第一百二十通訊單元
第一百二十一通訊單元
第一百二十二通訊單元
第一百二十三通訊單元
第一百二十四通訊單元
第一百二十五通訊單元
第一百二十六通訊單元
第一百二十七通訊單元
第一百二十八通訊單元
第一百二十九通訊單元
第一百三十通訊單元
第一百三十一通訊單元
第一百三十二通訊單元
第一百三十三通訊單元
第一百三十四通訊單元
第一百三十五通訊單元
第一百三十六通訊單元
第一百三十七通訊單元
第一百三十八通訊單元
第一百三十九通訊單元
第一百四十通訊單元
第一百四十一通訊單元
第一百四十二通訊單元
第一百四十三通訊單元
第一百四十四通訊單元
第一百四十五通訊單元
第一百四十六通訊單元
第一百四十七通訊單元
第一百四十八通訊單元
第一百四十九通訊單元
第一百五十通訊單元
第一百五十一通訊單元
第一百五十二通訊單元
第一百五十三通訊單元
第一百五十四通訊單元
第一百五十五通訊單元
第一百五十六通訊單元
第一百五十七通訊單元
第一百五十八通訊單元
第一百五十九通訊單元
第一百六十通訊單元
第一百六十一通訊單元
第一百六十二通訊單元
第一百六十三通訊單元
第一百六十四通訊單元
第一百六十五通訊單元
第一百六十六通訊單元
第一百六十七通訊單元
第一百六十八通訊單元
第一百六十九通訊單元
第一百七十通訊單元
第一百七十一通訊單元
第一百七十二通訊單元
第一百七十三通訊單元
第一百七十四通訊單元
第一百七十五通訊單元
第一百七十六通訊單元
第一百七十七通訊單元
第一百七十八通訊單元
第一百七十九通訊單元
第一百八十通訊單元
第一百八十一通訊單元
第一百八十二通訊單元
第一百八十三通訊單元
第一百八十四通訊單元
第一百八十五通訊單元
第一百八十六通訊單元
第一百八十七通訊單元
第一百八十八通訊單元
第一百八十九通訊單元
第一百九十通訊單元
第一百九十一通訊單元
第一百九十二通訊單元
第一百九十三通訊單元
第一百九十四通訊單元
第一百九十五通訊單元
第一百九十六通訊單元
第一百九十七通訊單元
第一百九十八通訊單元
第一百九十九通訊單元
第二百通訊單元
第二百一通訊單元
第二百二通訊單元
第二百三通訊單元
第二百四通訊單元
第二百五通訊單元
第二百六通訊單元
第二百七通訊單元
第二百八通訊單元
第二百九通訊單元
第二百十通訊單元
第二百十一通訊單元
第二百十二通訊單元
第二百十三通訊單元
第二百十四通訊單元
第二百十五通訊單元
第二百十六通訊單元
第二百十七通訊單元
第二百十八通訊單元
第二百十九通訊單元
第二百二十通訊單元
第二百二十一通訊單元
第二百二十二通訊單元
第二百二十三通訊單元
第二百二十四通訊單元
第二百二十五通訊單元
第二百二十六通訊單元
第二百二十七通訊單元
第二百二十八通訊單元
第二百二十九通訊單元
第二百三十通訊單元
第二百三十一通訊單元
第二百三十二通訊單元
第二百三十三通訊單元
第二百三十四通訊單元
第二百三十五通訊單元
第二百三十六通訊單元
第二百三十七通訊單元
第二百三十八通訊單元
第二百三十九通訊單元
第二百四十通訊單元
第二百四十一通訊單元
第二百四十二通訊單元
第二百四十三通訊單元
第二百四十四通訊單元
第二百四十五通訊單元
第二百四十六通訊單元
第二百四十七通訊單元
第二百四十八通訊單元
第二百四十九通訊單元
第二百五十通訊單元
第二百五十一通訊單元
第二百五十二通訊單元
第二百五十三通訊單元
第二百五十四通訊單元
第二百五十五通訊單元
第二百五十六通訊單元
第二百五十七通訊單元
第二百五十八通訊單元
第二百五十九通訊單元
第二百六十通訊單元
第二百六十一通訊單元
第二百六十二通訊單元
第二百六十三通訊單元
第二百六十四通訊單元
第二百六十五通訊單元
第二百六十六通訊單元
第二百六十七通訊單元
第二百六十八通訊單元
第二百六十九通訊單元
第二百七十通訊單元
第二百七十一通訊單元
第二百七十二通訊單元
第二百七十三通訊單元
第二百七十四通訊單元
第二百七十五通訊單元
第二百七十六通訊單元
第二百七十七通訊單元
第二百七十八通訊單元
第二百七十九通訊單元
第二百八十通訊單元
第二百八十一通訊單元
第二百八十二通訊單元
第二百八十三通訊單元
第二百八十四通訊單元
第二百八十五通訊單元
第二百八十六通訊單元
第二百八十七通訊單元
第二百八十八通訊單元
第二百八十九通訊單元
第二百九十通訊單元
第二百九十一通訊單元
第二百九十二通訊單元
第二百九十三通訊單元
第二百九十四通訊單元
第二百九十五通訊單元
第二百九十六通訊單元
第二百九十七通訊單元
第二百九十八通訊單元
第二百九十九通訊單元
第三百通訊單元
第三百一通訊單元
第三百二通訊單元
第三百三通訊單元
第三百四通訊單元
第三百五通訊單元
第三百六通訊單元
第三百七通訊單元
第三百八通訊單元
第三百九通訊單元
第三百十通訊單元
第三百十一通訊單元
第三百十二通訊單元
第三百十三通訊單元
第三百十四通訊單元
第三百十五通訊單元
第三百十六通訊單元
第三百十七通訊單元
第三百十八通訊單元
第三百十九通訊單元
第三百二十通訊單元
第三百二十一通訊單元
第三百二十二通訊單元
第三百二十三通訊單元
第三百二十四通訊單元
第三百二十五通訊單元
第三百二十六通訊單元
第三百二十七通訊單元
第三百二十八通訊單元
第三百二十九通訊單元
第三百三十通訊單元
第三百三十一通訊單元
第三百三十二通訊單元
第三百三十三通訊單元
第三百三十四通訊單元
第三百三十五通訊單元
第三百三十六通訊單元
第三百三十七通訊單元
第三百三十八通訊單元
第三百三十九通訊單元
第三百四十通訊單元
第三百四十一通訊單元
第三百四十二通訊單元
第三百四十三通訊單元
第三百四十四通訊單元
第三百四十五通訊單元
第三百四十六通訊單元
第三百四十七通訊單元
第三百四十八通訊單元
第三百四十九通訊單元
第三百五十通訊單元
第三百五十一通訊單元
第三百五十二通訊單元
第三百五十三通訊單元
第三百五十四通訊單元
第三百五十五通訊單元
第三百五十六通訊單元
第三百五十七通訊單元
第三百五十八通訊單元
第三百五十九通訊單元
第三百六十通訊單元
第三百六十一通訊單元
第三百六十二通訊單元
第三百六十三通訊單元
第三百六十四通訊單元
第三百六十五通訊單元
第三百六十六通訊單元
第三百六十七通訊單元
第三百六十八通訊單元
第三百六十九通訊單元
第三百七十通訊單元
第三百七十一通訊單元
第三百七十二通訊單元
第三百七十三通訊單元
第三百七十四通訊單元
第三百七十五通訊單元
第三百七十六通訊單元
第三百七十七通訊單元
第三百七十八通訊單元
第三百七十九通訊單元
第三百八十通訊單元
第三百八十一通訊單元
第三百八十二通訊單元
第三百八十三通訊單元
第三百八十四通訊單元
第三百八十五通訊單元
第三百八十六通訊單元
第三百八十七通訊單元
第三百八十八通訊單元
第三百八十九通訊單元
第三百九十通訊單元
第三百九十一通訊單元
第三百九十二通訊單元
第三百九十三通訊單元
第三百九十四通訊單元
第三百九十五通訊單元
第三百九十六通訊單元
第三百九十七通訊單元
第三百九十八通訊單元
第三百九十九通訊單元
第四百通訊單元
第四百一通訊單元
第四百二通訊單元
第四百三通訊單元
第四百四通訊單元
第四百五通訊單元
第四百六通訊單元
第四百七通訊單元
第四百八通訊單元
第四百九通訊單元
第四百十通訊單元
第四百十一通訊單元
第四百十二通訊單元
第四百十三通訊單元
第四百十四通訊單元
第四百十五通訊單元
第四百十六通訊單元
第四百十七通訊單元
第四百十八通訊單元
第四百十九通訊單元
第四百二十通訊單元
第四百二十一通訊單元
第四百二十二通訊單元
第四百二十三通訊單元
第四百二十四通訊單元
第四百二十五通訊單元
第四百二十六通訊單元
第四百二十七通訊單元
第四百二十八通訊單元
第四百二十九通訊單元
第四百三十通訊單元
第四百三十一通訊單元
第四百三十二通訊單元
第四百三十三通訊單元
第四百三十四通訊單元
第四百三十五通訊單元
第四百三十六通訊單元
第四百三十七通訊單元
第四百三十八通訊單元
第四百三十九通訊單元
第四百四十通訊單元
第四百四十一通訊單元
第四百四十二通訊單元
第四百四十三通訊單元
第四百四十四通訊單元
第四百四十五通訊單元
第四百四十六通訊單元
第四百四十七通訊單元
第四百四十八通訊單元
第四百四十九通訊單元
第四百五十通訊單元
第四百五十一通訊單元
第四百五十二通訊單元
第四百五十三通訊單元
第四百五十四通訊單元
第四百五十五通訊單元
第四百五十六通訊單元
第四百五十七通訊單元
第四百五十八通訊單元
第四百五十九通訊單元
第四百六十通訊單元
第四百六十一通訊單元
第四百六十二通訊單元
第四百六十三通訊單元
第四百六十四通訊單元
第四百六十五通訊單元
第四百六十六通訊單元
第四百六十七通訊單元
第四百六十八通訊單元
第四百六十九通訊單元
第四百七十通訊單元
第四百七十一通訊單元
第四百七十二通訊單元
第四百七十三通訊單元
第四百七十四通訊單元
第四百七十五通訊單元
第四百七十六通訊單元
第四百七十七通訊單元
第四百七十八通訊單元
第四百七十九通訊單元
第四百八十通訊單元
第四百八十一通訊單元
第四百八十二通訊單元
第四百八十三通訊單元
第四百八十四通訊單元
第四百八十五通訊單元
第四百八十六通訊單元
第四百八十七通訊單元
第四百八十八通訊單元
第四百八十九通訊單元
第四百九十通訊單元
第四百九十一通訊單元
第四百九十二通訊單元
第四百九十三通訊單元
第四百九十四通訊單元
第四百九十五通訊單元
第四百九十六通訊單元
第四百九十七通訊單元
第四百九十八通訊單元
第四百九十九通訊單元
第五百通訊單元
第五百一通訊單元
第五百二通訊單元
第五百三通訊單元
第五百四通訊單元
第五百五通訊單元
第五百六通訊單元
第五百七通訊單元
第五百八通訊單元
第五百九通訊單元
第五百十通訊單元
第五百十一通訊單元
第五百十二通訊單元
第五百十三通訊單元
第五百十四通訊單元
第五百十五通訊單元
第五百十六通訊單元
第五百十七通訊單元
第五百十八通訊單元
第五百十九通訊單元
第五百二十通訊單元
第五百二十一通訊單元
第五百二十二通訊單元
第五百二十三通訊單元
第五百二十四通訊單元
第五百二十五通訊單元
第五百二十六通訊單元
第五百二十七通訊單元
第五百二十八通訊單元
第五百二十九通訊單元
第五百三十通訊單元
第五百三十一通訊單元
第五百三十二通訊單元
第五百三十三通訊單元
第五百三十四通訊單元
第五百三十五通訊單元
第五百三十六通訊單元
第五百三十七通訊單元
第五百三十八通訊單元
第五百三十九通訊單元
第五百四十通訊單元
第五百四十一通訊單元
第五百四十二通訊單元
第五百四十三通訊單元
第五百四十四通訊單元
第五百四十五通訊單元
第五百四十六通訊單元
第五百四十七通訊單元
第五百四十八通訊單元
第五百四十九通訊單元
第五百五十通訊單元
第五百五十一通訊單元
第五百五十二通訊單元
第五百五十三通訊單元
第五百五十四通訊單元
第五百五十五通訊單元
第五百五十六通訊單元
第五百五十七通訊單元
第五百五十八通訊單元
第五百五十九通訊單元
第五百六十通訊單元
第五百六十一通訊單元
第五百六十二通訊單元
第五百六十三通訊單元
第五百六十四通訊單元
第五百六十五通訊單元
第五百六十六通訊單元
第五百六十七通訊單元
第五百六十八通訊單元
第五百六十九通訊單元
第五百七十通訊單元
第五百七十一通訊單元
第五百七十二通訊單元
第五百七十三通訊單元
第五百七十四通訊單元
第五百七十五通訊單元
第五百七十六通訊單元
第五百七十七通訊單元
第五百七十八通訊單元
第五百七十九通訊單元
第五百八十通訊單元
第五百八十一通訊單元
第五百八十二通訊單元
第五百八十三通訊單元
第五百八十四通訊單元
第五百八十五通訊單元
第五百八十六通訊單元
第五百八十七通訊單元
第五百八十八通訊單元
第五百八十九通訊單元
第五百九十通訊單元
第五百九十一通訊單元
第五百九十二通訊單元
第五百九十三通訊單元
第五百九十四通訊單元
第五百九十五通訊單元
第五百九十六通訊單元
第五百九十七通訊單元
第五百九十八通訊單元
第五百九十九通訊單元
第六百通訊單元
第六百一通訊單元
第六百二通訊單元
第六百三通訊單元
第六百四通訊單元
第六百五通訊單元
第六百六通訊單元
第六百七通訊單元
第六百八通訊單元
第六百九通訊單元
第六百十通訊單元
第六百十一通訊單元
第六百十二通訊單元
第六百十三通訊單元
第六百十四通訊單元
第六百十五通訊單元
第六百十六通訊單元
第六百十七通訊單元
第六百十八通訊單元
第六百十九通訊單元
第六百二十通訊單元
第六百二十一通訊單元
第六百二十二通訊單元
第六百二十三通訊單元
第六百二十四通訊單元
第六百二十五通訊單元
第六百二十六通訊單元
第六百二十七通訊單元
第六百二十八通訊單元
第六百二十九通訊單元
第六百三十通訊單元
第六百三十一通訊單元
第六百三十二通訊單元
第六百三十三通訊單元
第六百三十四通訊單元
第六百三十五通訊單元
第六百三十六通訊單元
第六百三十七通訊單元
第六百三十八通訊單元
第六百三十九通訊單元
第六百四十通訊單元
第六百四十一通訊單元
第六百四十二通訊單元
第六百四十三通訊單元
第六百四十四通訊單元
第六百四十五通訊單元
第六百四十六通訊單元
第六百四十七通訊單元
第六百四十八通訊單元
第六百四十九通訊單元
第六百五十通訊單元
第六百五十一通訊單元
第六百五十二通訊單元
第六百五十三通訊單元
第六百五十四通訊單元
第六百五十五通訊單元
第六百五十六通訊單元
第六百五十七通訊單元
第六百五十八通訊單元
第六百五十九通訊單元
第六百六十通訊單元
第六百六十一通訊單元
第六百六十二通訊單元
第六百六十三通訊單元
第六百六十四通訊單元
第六百六十五通訊單元
第六百六十六通訊單元
第六百六十七通訊單元
第六百六十八通訊單元
第六百六十九通訊單元
第六百七十通訊單元
第六百七十一通訊單元
第六百七十二通訊單元
第六百七十三通訊單元
第六百七十四通訊單元
第六百七十五通訊單元
第六百七十六通訊單元
第六百七十七通訊單元
第六百七十八通訊單元
第六百七十九通訊單元
第六百八十通訊單元
第六百八十一通訊單元
第六百八十二通訊單元
第六百八十三通訊單元
第六百八十四通訊單元
第六百八十五通訊單元
第六百八十六通訊單元
第六百八十七通訊單元
第六百八十八通訊單元
第六百八十九通訊單元
第六百九十通訊單元
第六百九十一通訊單元
第六百九十二通訊單元
第六百九十三通訊單元
第六百九十四通訊單元
第六百九十五通訊單元
第六百九十六通訊單元
第六百九十七通訊單元
第六百九十八通訊單元
第六百九十九通訊單元
第七百通訊單元
第七百一通訊單元
第七百二通訊單元
第七百三通訊單元
第七百四通訊單元
第七百五通訊單元
第七百六通訊單元
第七百七通訊單元
第七百八通訊單元
第七百九通訊單元
第七百十通訊單元
第七百十一通訊單元
第七百十二通訊單元
第七百十三通訊單元
第七百十四通訊單元
第七百十五通訊單元
第七百十六通訊單元
第七百十七通訊單元
第七百十八通訊單元
第七百十九通訊單元
第七百二十通訊單元
第七百二十一通訊單元
第七百二十二通訊單元
第七百二十三通訊單元
第七百二十四通訊單元
第七百二十五通訊單元
第七百二十六通訊單元
第七百二十七通訊單元
第七百二十八通訊單元
第七百二十九通訊單元
第七百三十通訊單元
第七百三十一通訊單元
第七百三十二通訊單元
第七百三十三通訊單元
第七百三十四通訊單元
第七百三十五通訊單元
第七百三十六通訊單元
第七百三十七通訊單元
第七百三十八通訊單元
第七百三十九通訊單元
第七百四十通訊單元
第七百四十一通訊單元
第七百四十二通訊單元
第七百四十三通訊單元
第七百四十四通訊單元
第七百四十五通訊單元
第七百四十六通訊單元
第七百四十七通訊單元
第七百四十八通訊單元
第七百四十九通訊單元
第七百五十通訊單元
第七百五十一通訊單元
第七百五十二通訊單元
第七百五十三通訊單元
第七百五十四通訊單元
第七百五十五通訊單元
第七百五十六通訊單元
第七百五十七通訊單元
第七百五十八通訊單元
第七百五十九通訊單元
第七百六十通訊單元
第七百六十一通訊單元
第七百六十二通訊單元
第七百六十三通訊單元
第七百六十四通訊單元
第七百六十五通訊單元
第七百六十六通訊單元
第七百六十七通訊單元
第七百六十八通訊單元
第七百六十九通訊單元
第七百七十通訊單元
第七百七十一通訊單元
第七百七十二通訊單元
第七百七十三通訊單元
第七百七十四通訊單元
第七百七十五通訊單元
第七百七十六通訊單元
第七百七十七通訊單元
第七百七十八通訊單元
第七百七十九通訊單元
第七百八十通訊單元
第七百八十一通訊單元
第七百八十二通訊單元
第七百八十三通訊單元
第七百八十四通訊單元
第七百八十五通訊單元
第七百八十六通訊單元
第七百八十七通訊單元
第七百八十八通訊單元
第七百八十九通訊單元
第七百九十通訊單元
第七百九十一通訊單元
第七百九十二通訊單元
第七百九十三通訊單元
第七百九十四通訊單元
第七百九十五通訊單元
第七百九十六通訊單元
第七百九十七通訊單元
第七百九十八通訊單元
第七百九十九通訊單元
第八百通訊單元
第八百一通訊單元
第八百二通訊單元
第八百三通訊單元
第八百四通訊單元
第八百五通訊單元
第八百六通訊單元
第八百七通訊單元
第八百八通訊單元
第八百九通訊單元
第八百十通訊單元
第八百十一通訊單元
第八百十二通訊單元
第八百十三通訊單元
第八百十四通訊單元
第八百十五通訊單元
第八百十六通訊單元
第八百十七通訊單元
第八百十八通訊單元
第八百十九通訊單元
第八百二十通訊單元
第八百二十一通訊單元
第八百二十二通訊單元
第八百二十三通訊單元
第八百二十四通訊單元
第八百二十五通訊單元
第八百二十六通訊單元
第八百二十七通訊單元
第八百二十八通訊單元
第八百二十九通訊單元
第八百三十通訊單元
第八百三十一通訊單元
第八百三十二通訊單元
第八百三十三通訊單元
第八百三十四通訊單元
第八百三十五通訊單元
第八百三十六通訊單元
第八百三十七通訊單元
第八百三十八通訊單元
第八百三十九通訊單元
第八百四十通訊單元
第八百四十一通訊單元
第八百四十二通訊單元
第八百四十三通訊單元
第八百四十四通訊單元
第八百四十五通訊單元
第八百四十六通訊單元
第八百四十七通訊單元
第八百四十八通訊單元
第八百四十九通訊單元
第八百五十通訊單元
第八百五十一通訊單元
第八百五十二通訊單元
第八百五十三通訊單元
第八百五十四通訊單元
第八百五十五通訊單元
第八百五十六通訊單元
第八百五十七通訊單元
第八百五十八通訊單元
第八百五十九通訊單元
第八百六十通訊單元
第八百六十一通訊單元
第八百六十二通訊單元
第八百六十三通訊單元
第八百六十四通訊單元
第八百六十五通訊單元
第八百六十六通訊單元
第八百六十七通訊單元
第八百六十八通訊單元
第八百六十九通訊單元
第八百七十通訊單元
第八百七十一通訊單元
第八百七十二通訊單元
第八百七十三通訊單元
第八百七十四通訊單元
第八百七十五通訊單元
第八百七十六通訊單元
第八百七十七通訊單元
第八百七十八通訊單元
第八百七十九通訊單元
第八百八十通訊單元
第八百八十一通訊單元
第八百八十二通訊單元
第八百八十三通訊單元
第八百八十四通訊單元
第八百八十五通訊單元
第八百八十六通訊單元
第八百八十七通訊單元
第八百八十八通訊單元
第八百八十九通訊單元
第八百九十通訊單元
第八百九十一通訊單元
第八百九十二通訊單元
第八百九十三通訊單元
第八百九十四通訊單元
第八百九十五通訊單元
第八百九十六通訊單元
第八百九十七通訊單元
第八百九十八通訊單元
第八百九十九通訊單元
第九百通訊單元
第九百一通訊單元
第九百二通訊單元
第九百三通訊單元
第九百四通訊單元
第九百五通訊單元
第九百六通訊單元
第九百七通訊單元
第九百八通訊單元
第九百九通訊單元
第九百十通訊單元
第九百十一通訊單元
第九百十二通訊單元
第九百十三通訊單元
第九百十四通訊單元
第九百十五通訊單元
第九百十六通訊單元
第九百十七通訊單元
第九百十八通訊單元
第九百十九通訊單元
第九百二十通訊單元
第九百二十一通訊單元
第九百二十二通訊單元
第九百二十三通訊單元
第九百二十四通訊單元
第九百二十五通訊單元
第九百二十六通訊單元
第九百二十七通訊單元
第九百二十八通訊單元
第九百二十九通訊單元
第九百三十通訊單元
第九百三十一通訊單元
第九百三十二通訊單元
第九百三十三通訊單元
第九百三十四通訊單元
第九百三十五通訊單元
第九百三十六通訊單元
第九百三十七通訊單元
第九百三十八通訊單元
第九百三十九通訊單元
第九百四十通訊單元
第九百四十一通訊單元
第九百四十二通訊單元
第九百四十三通訊單元
第九百四十四通訊單元
第九百四十五通訊單元
第九百四十六通訊單元
第九百四十七通訊單元
第九百四十八通訊單元
第九百四十九通訊單元
第九百五十通訊單元
第九百五十一通訊單元
第九百五十二通訊單元
第九百五十三通訊單元
第九百五十四通訊單元
第九百五十五通訊單元
第九百五十六通訊單元
第九百五十七通訊單元
第九百五十八通訊單元
第九百五十九通訊單元
第九百六十通訊單元
第九百六十一通訊單元
第九百六十二通訊單元
第九百六十三通訊單元
第九百六十四通訊單元
第九百六十五通訊單元
第九百六十六通訊單元
第九百六十七通訊單元
第九百六十八通訊單元
第九百六十九通訊單元
第九百七十通訊單元
第九百七十一通訊單元
第九百七十二通訊單元
第九百七十三通訊單元
第九百七十四通訊單元
第九百七十五通訊單元
第九百七十六通訊單元
第九百七十七通訊單元
第九百七十八通訊單元
第九百七十九通訊單元
第九百八十通訊單元
第九百八十一通訊單元
第九百八十二通訊單元
第九百八十三通訊單元
第九百八十四通訊單元
第九百八十五通訊單元
第九百八十六通訊單元
第九百八十七通訊單元
第九百八十八通訊單元
第九百八十九通訊單元
第九百九十通訊單元
第九百九十一通訊單元
第九百九十二通訊單元
第九百九十三通訊單元
第九百九十四通訊單元
第九百九十五通訊單元
第九百九十六通訊單元
第九百九十七通訊單元
第九百九十八通訊單元
第九百九十九通訊單元
第一千通訊單元

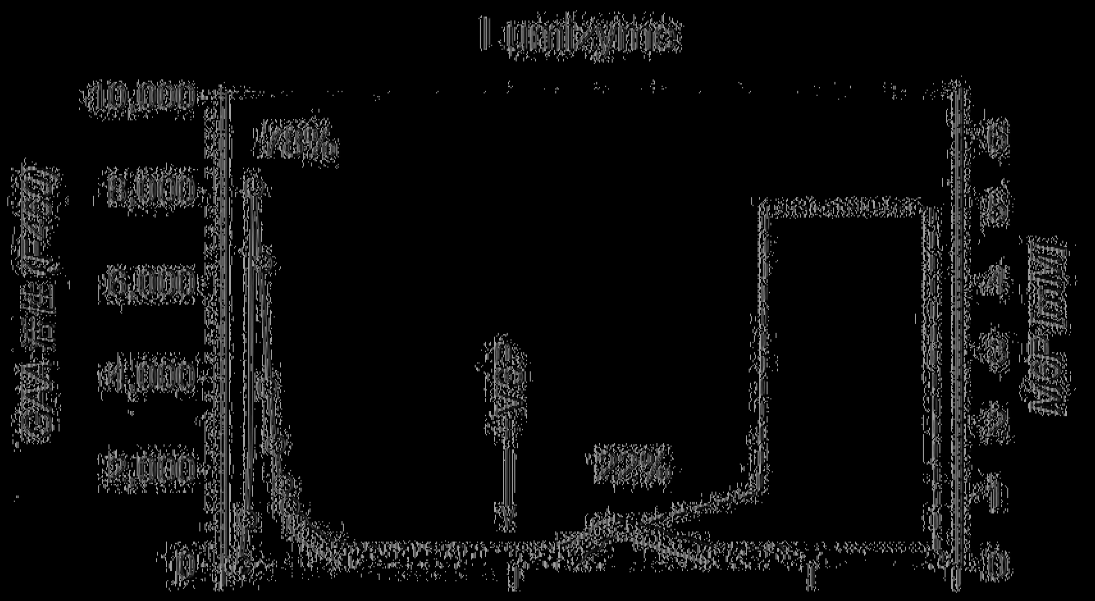
圖 69




（圖7）



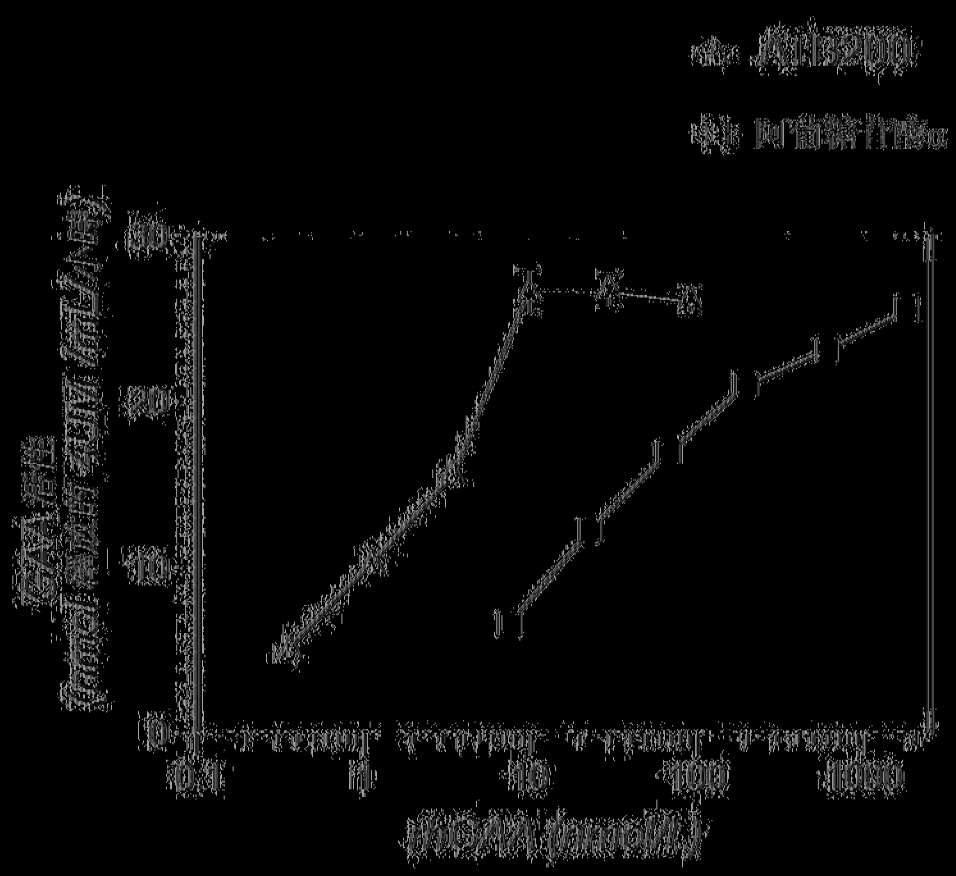

（圖8）



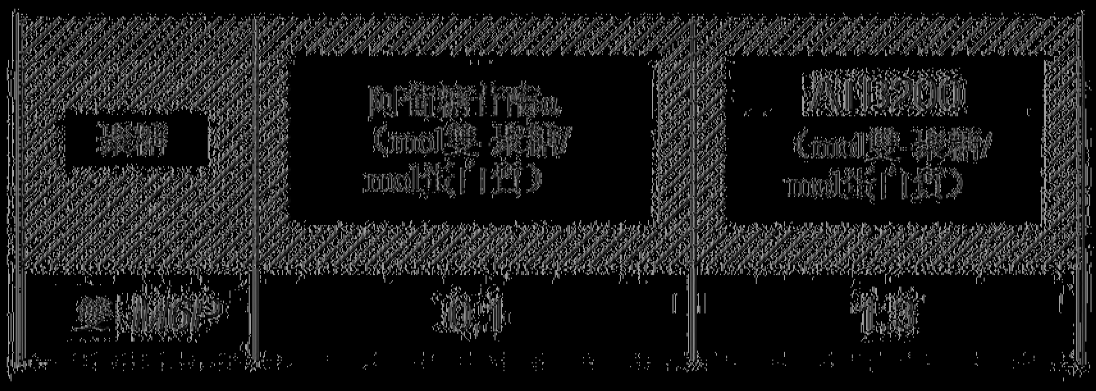
（圖 9A）



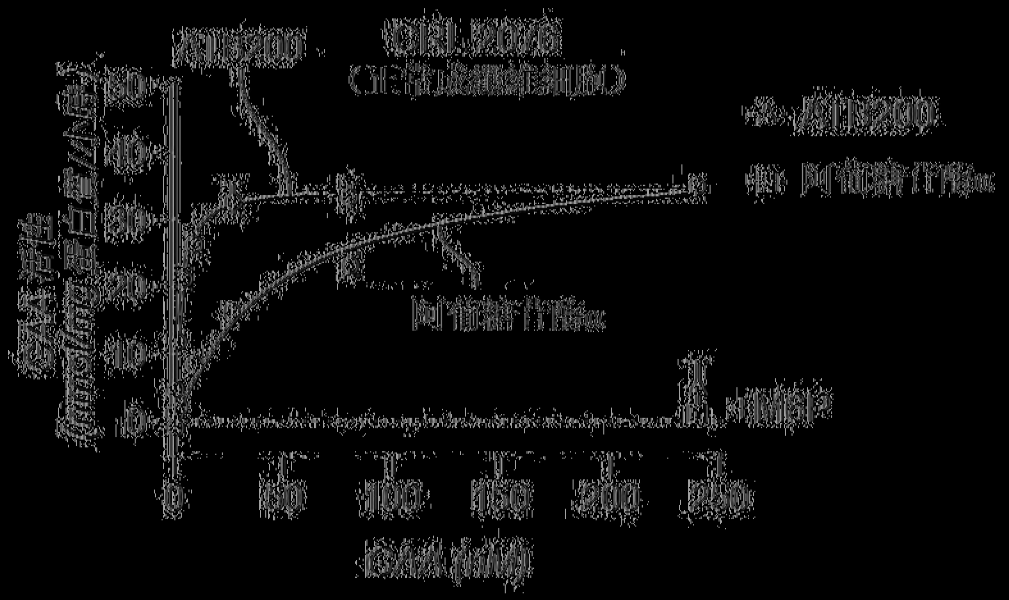
（圖9B）



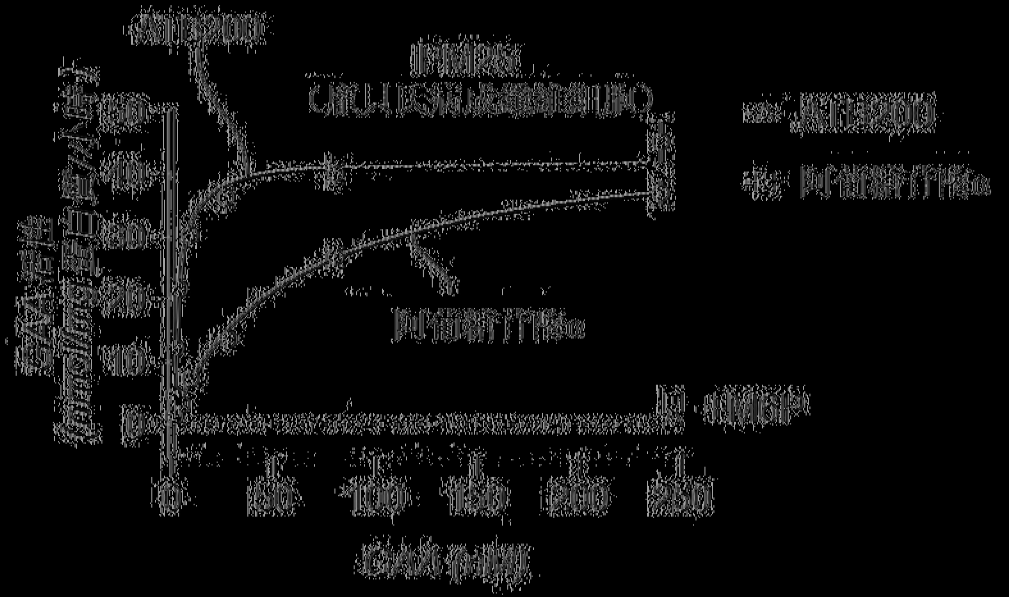
（圖 10A）



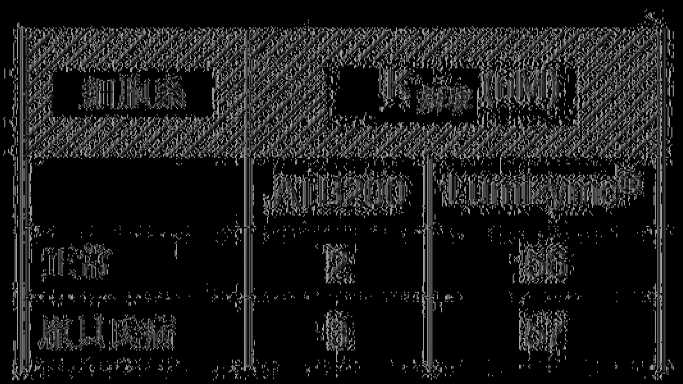
（圖10B）



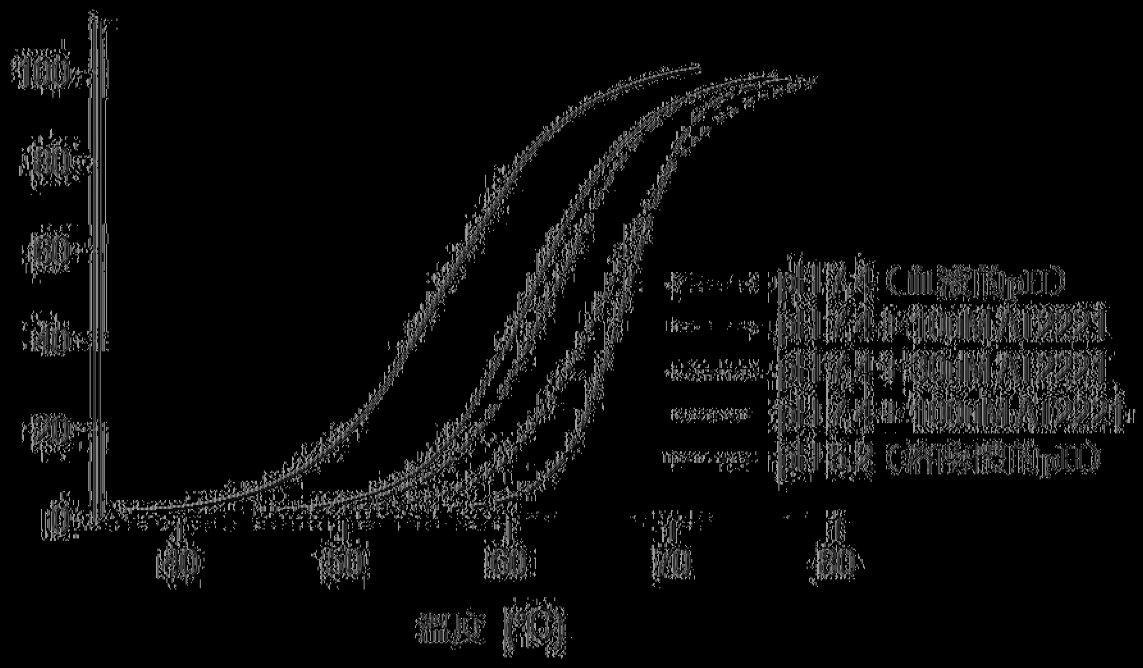
(圖11A)



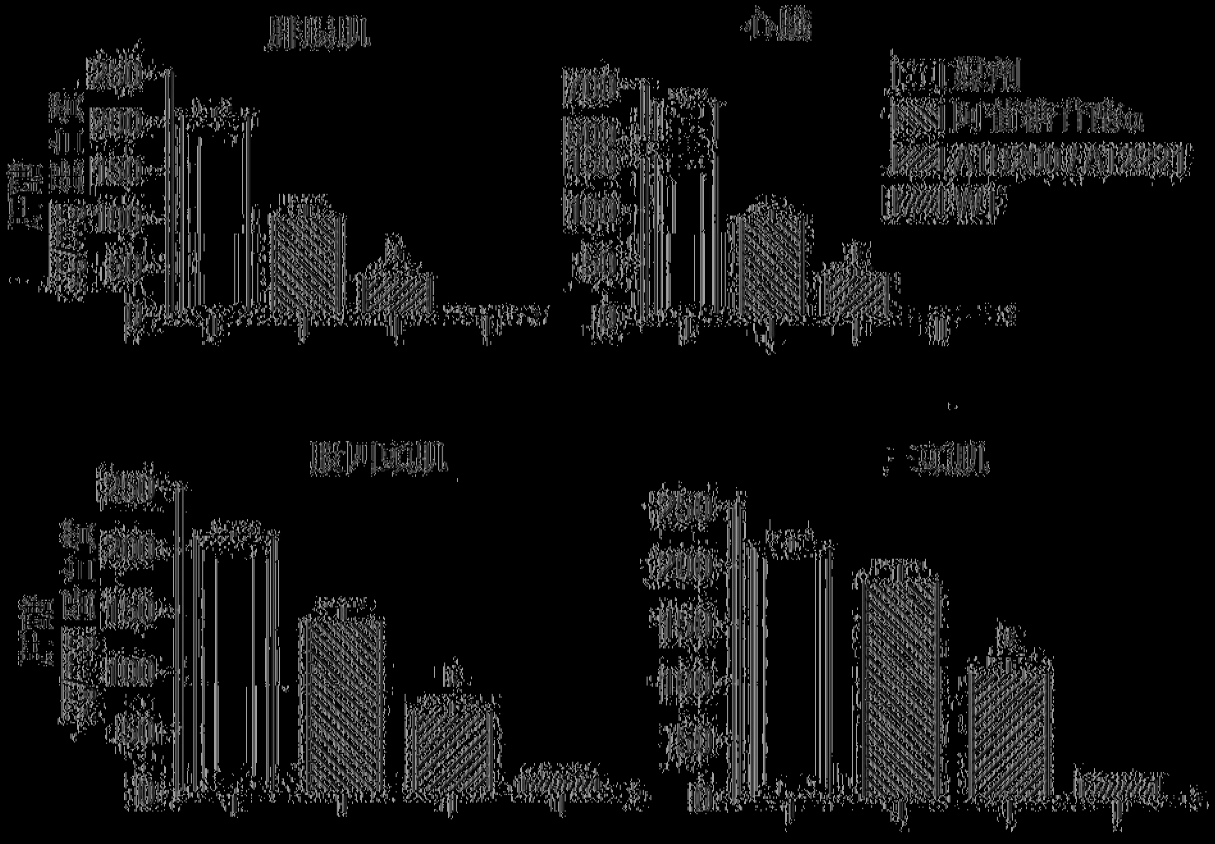
(圖11B)



(圖 11C)



(圖12)



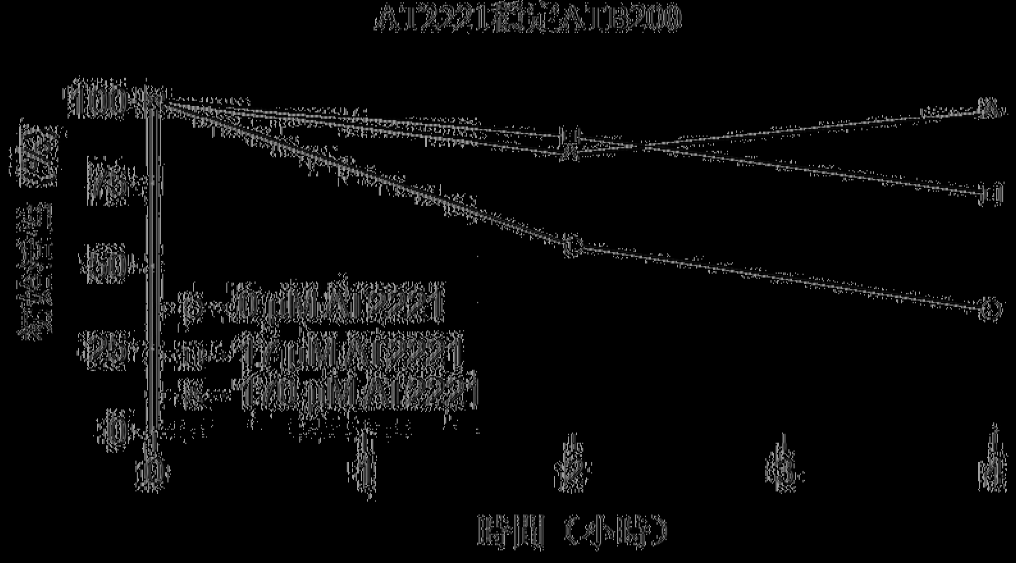
(圖13)

圖 1-4-5

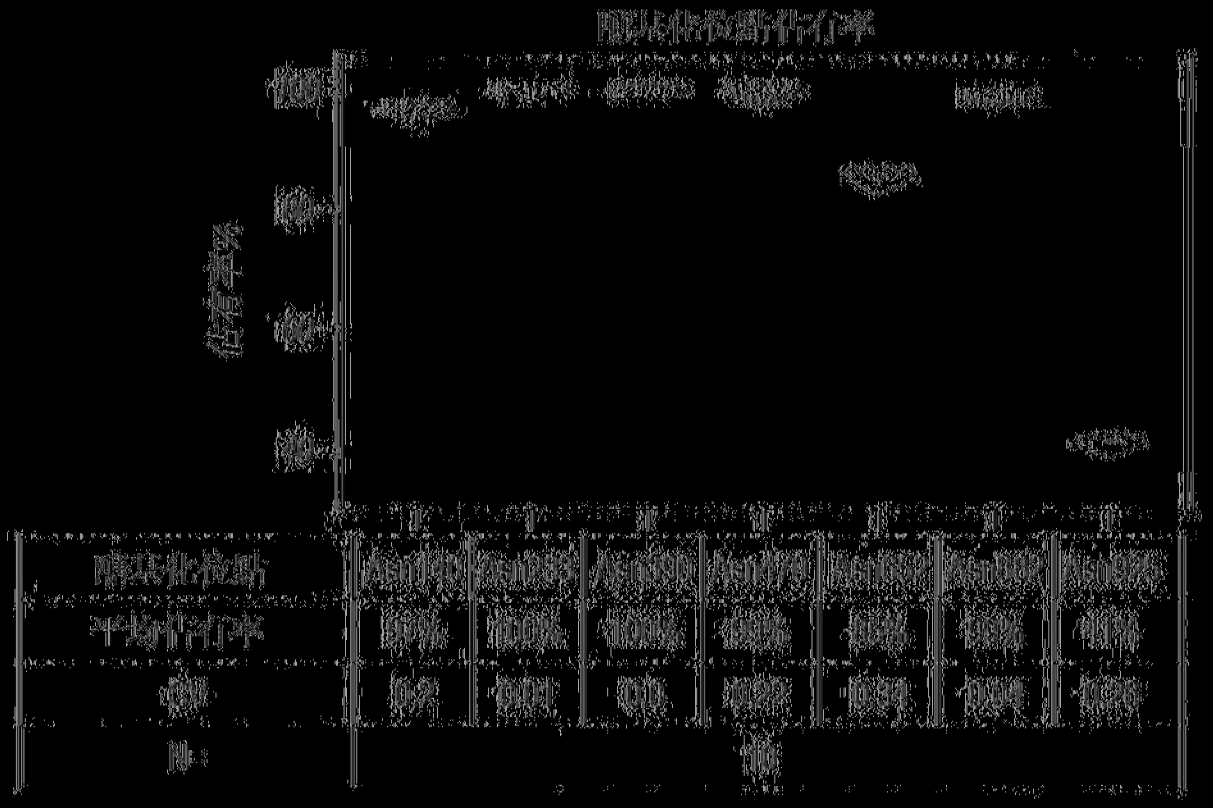
（圖5A）

Fig. 6

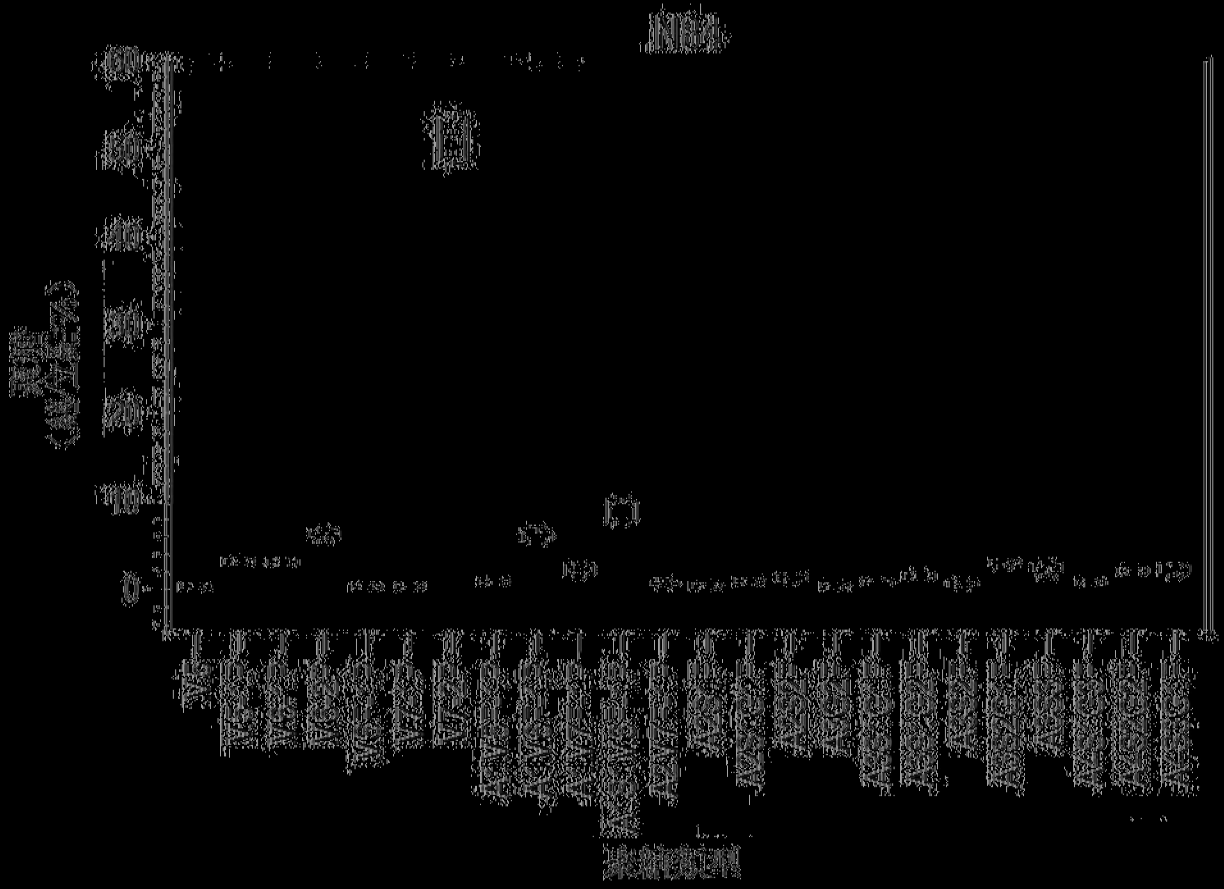
圖 3-17




（圖18）



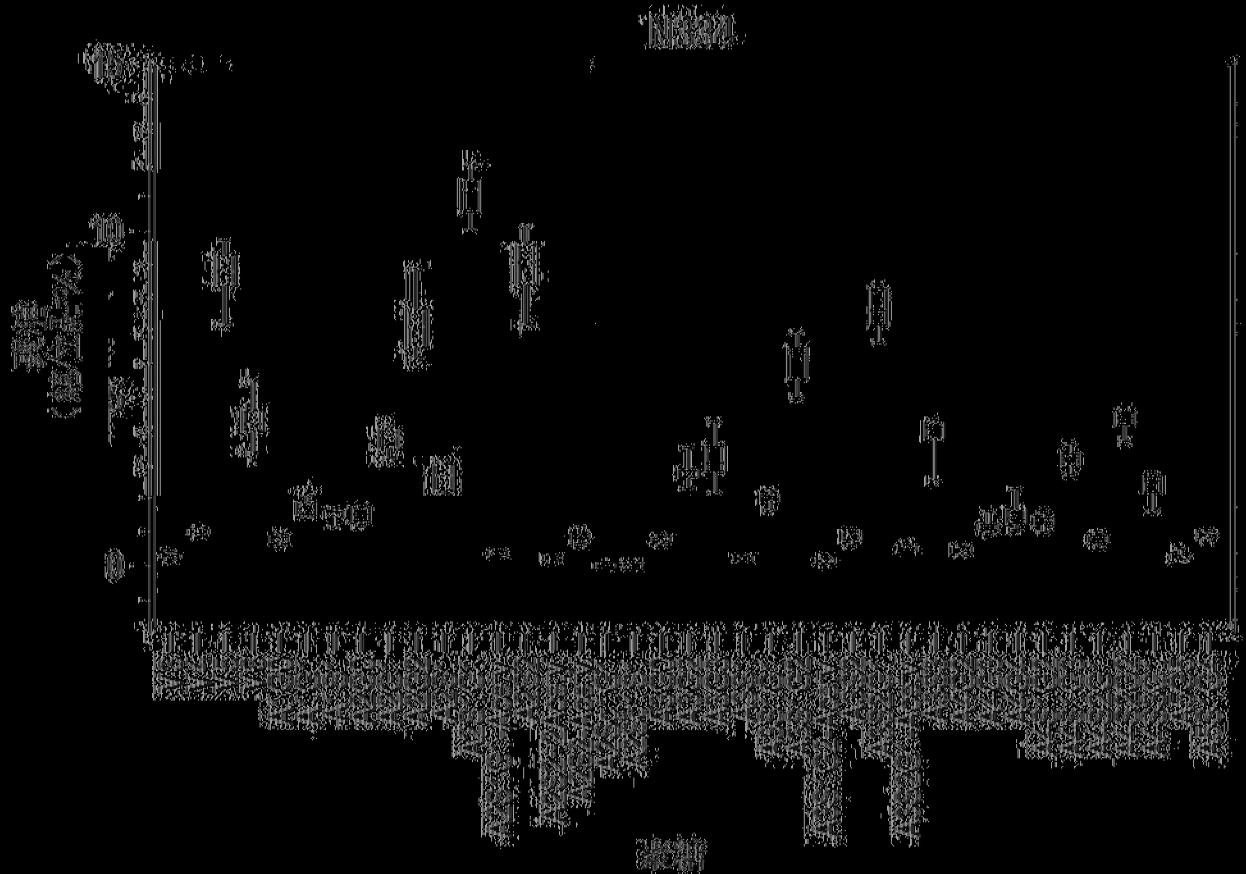
(圖19A)



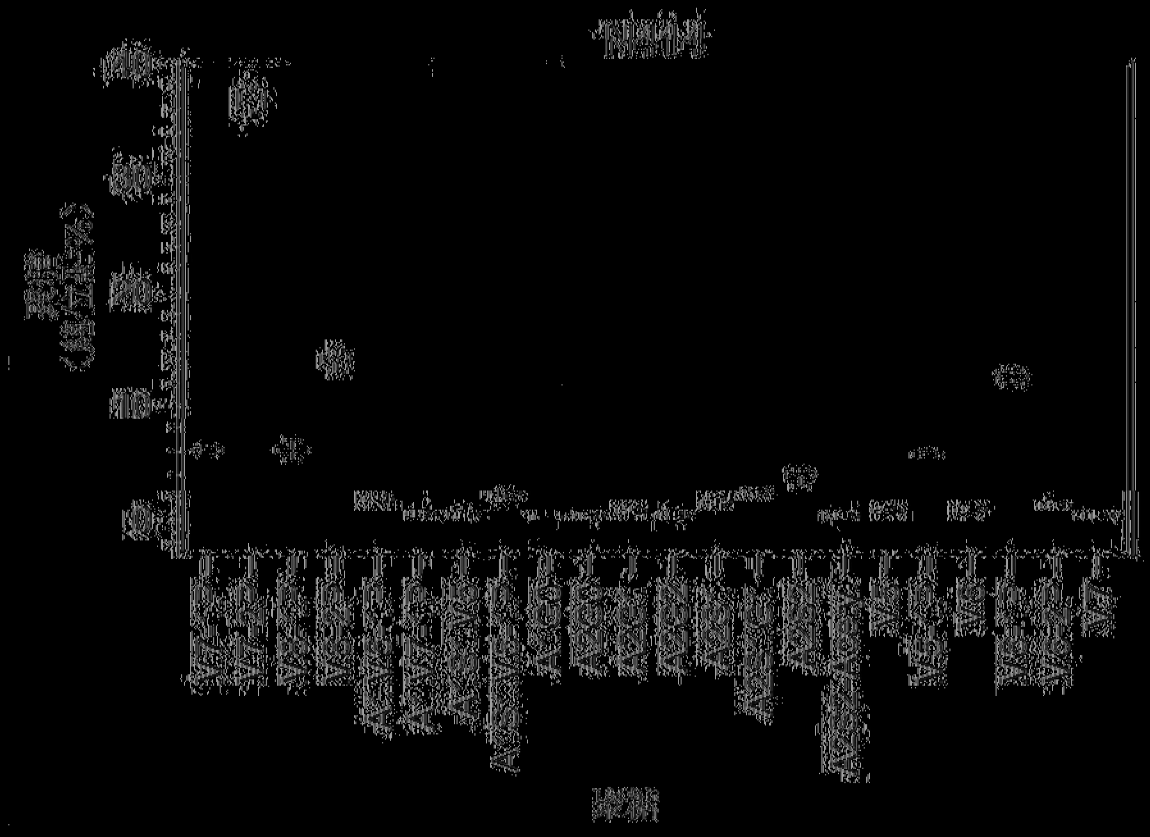
(圖 19B)



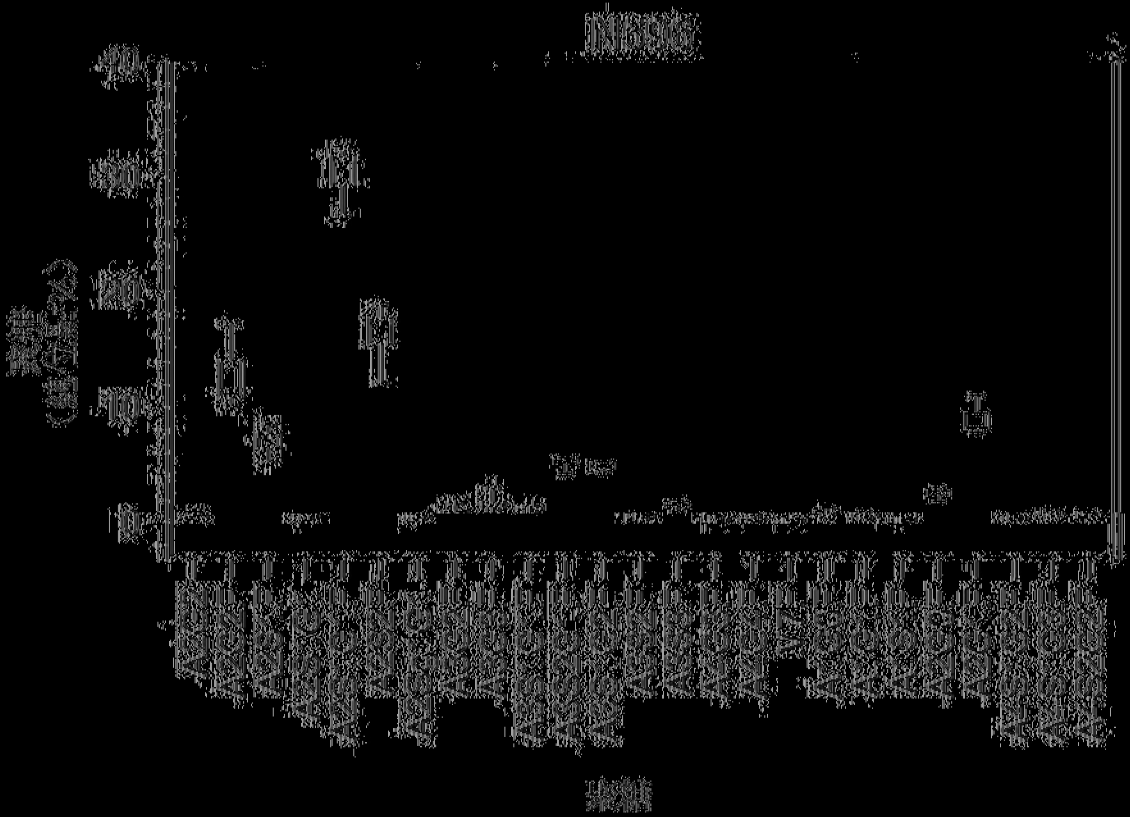
（圖19C）



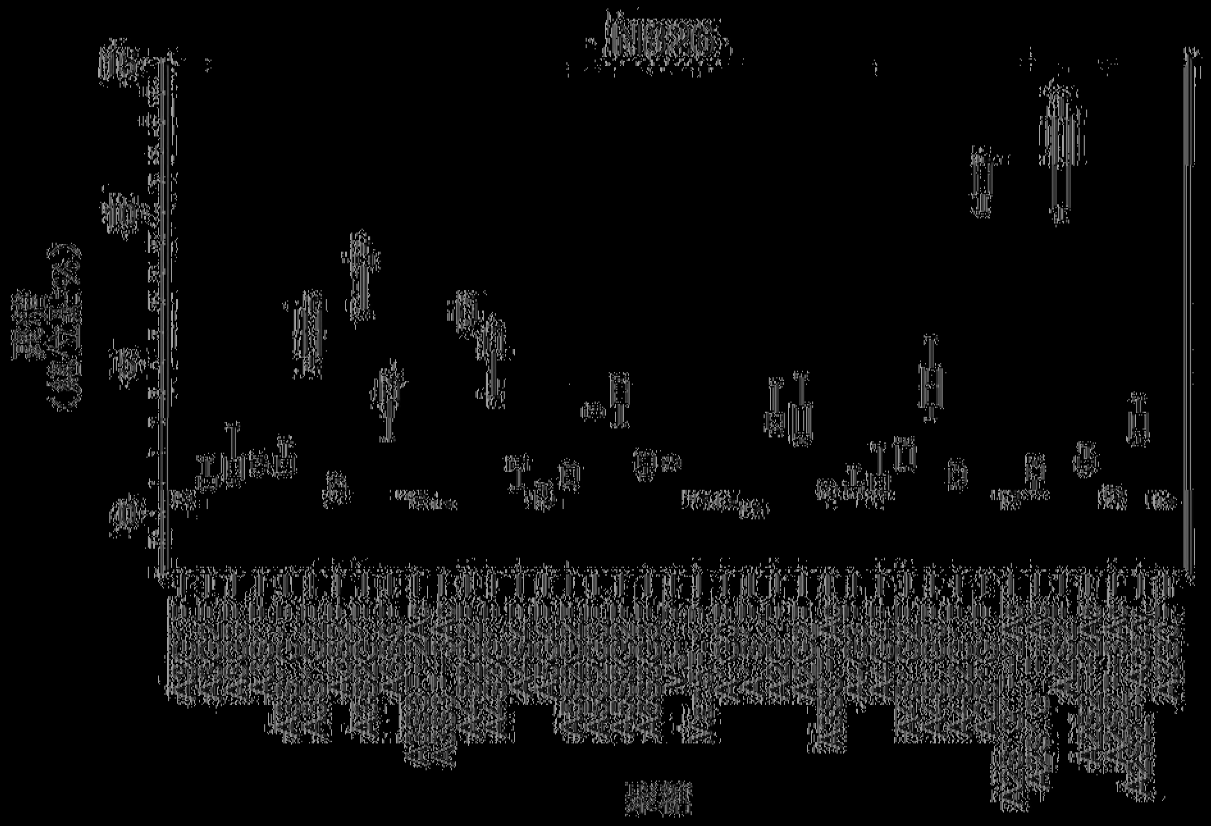
（圖 19D）



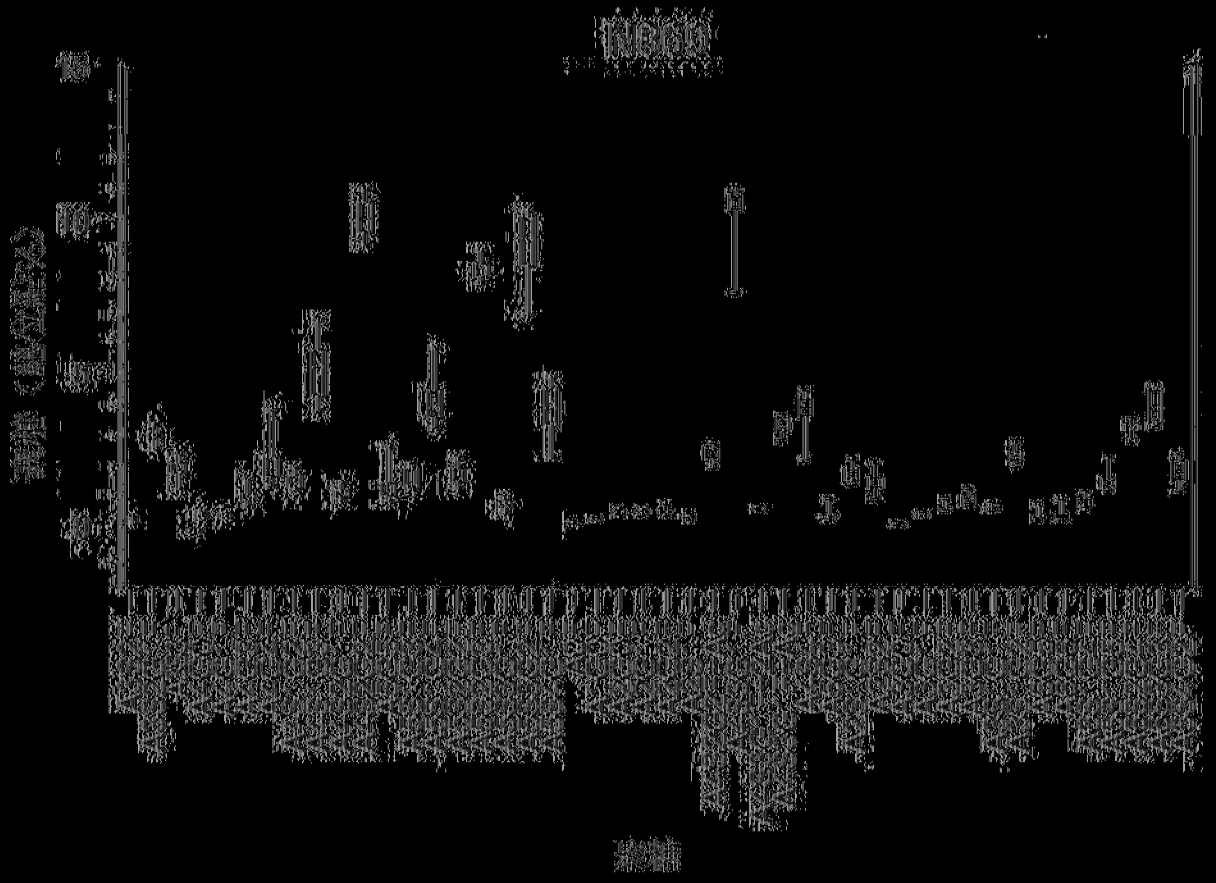
(圖19E)



(圖 19F)



（圖19G）



（圖 19D）

圖 3D

2024002.12.

2024002.12.

〔圖 23A〕

【圖 25】

（下頁 26A）

【圖 263】

圖 3(之)

圖 3.7

圖 3(c)
圖 3(d)

【圖 34】

圖 3.5.1

圖 35

2024002.12.

圖 17-5

# 臺北市政府

## 函

地址：11008臺北市信義區市府路1號
聯絡人：
聯絡電話：
電子郵件：

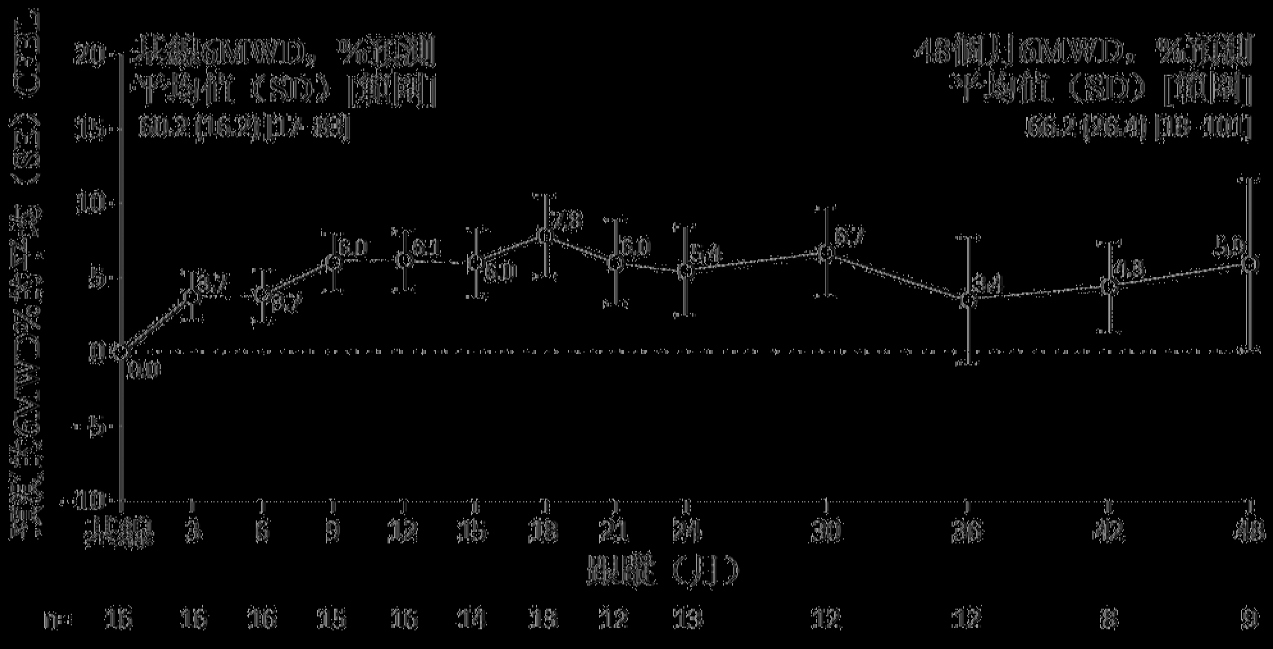
（下頁43）

(77圖)

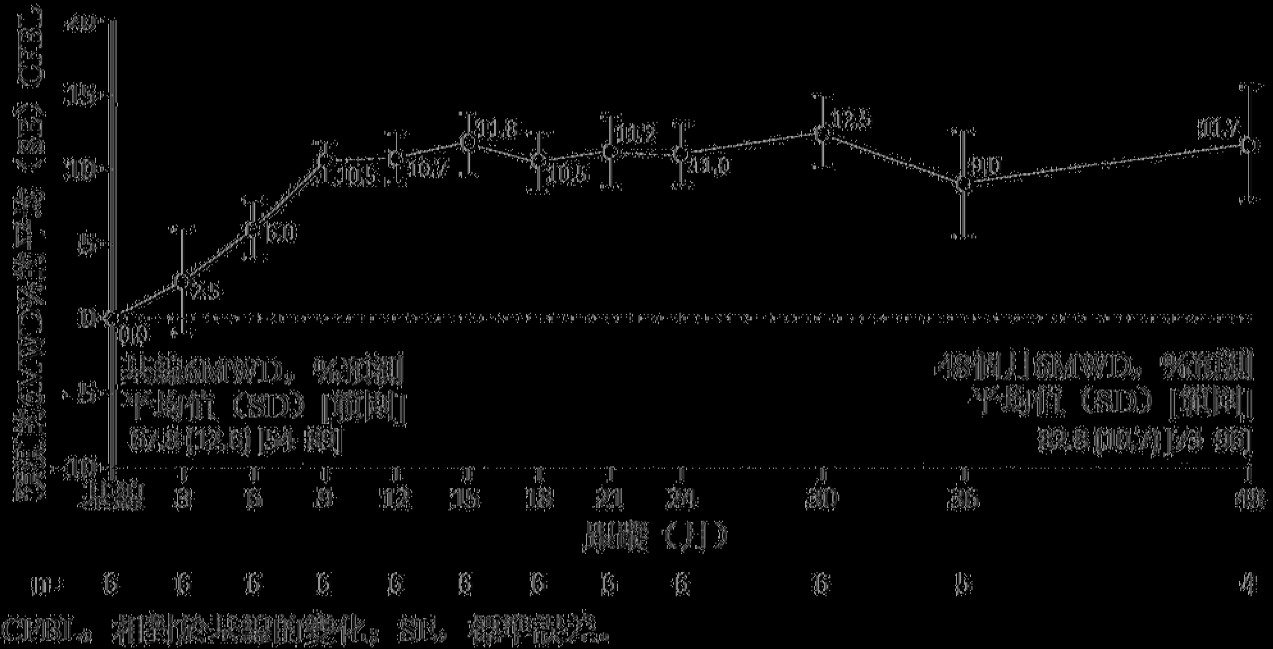
（下頁）

2024002.12.

（第7圖）




（図46C）




CI：信頼区間，SD：標準偏差。

（図46D）

【圖47A】

（473）

【圖 78A】

2024002.12.

2024002.12.



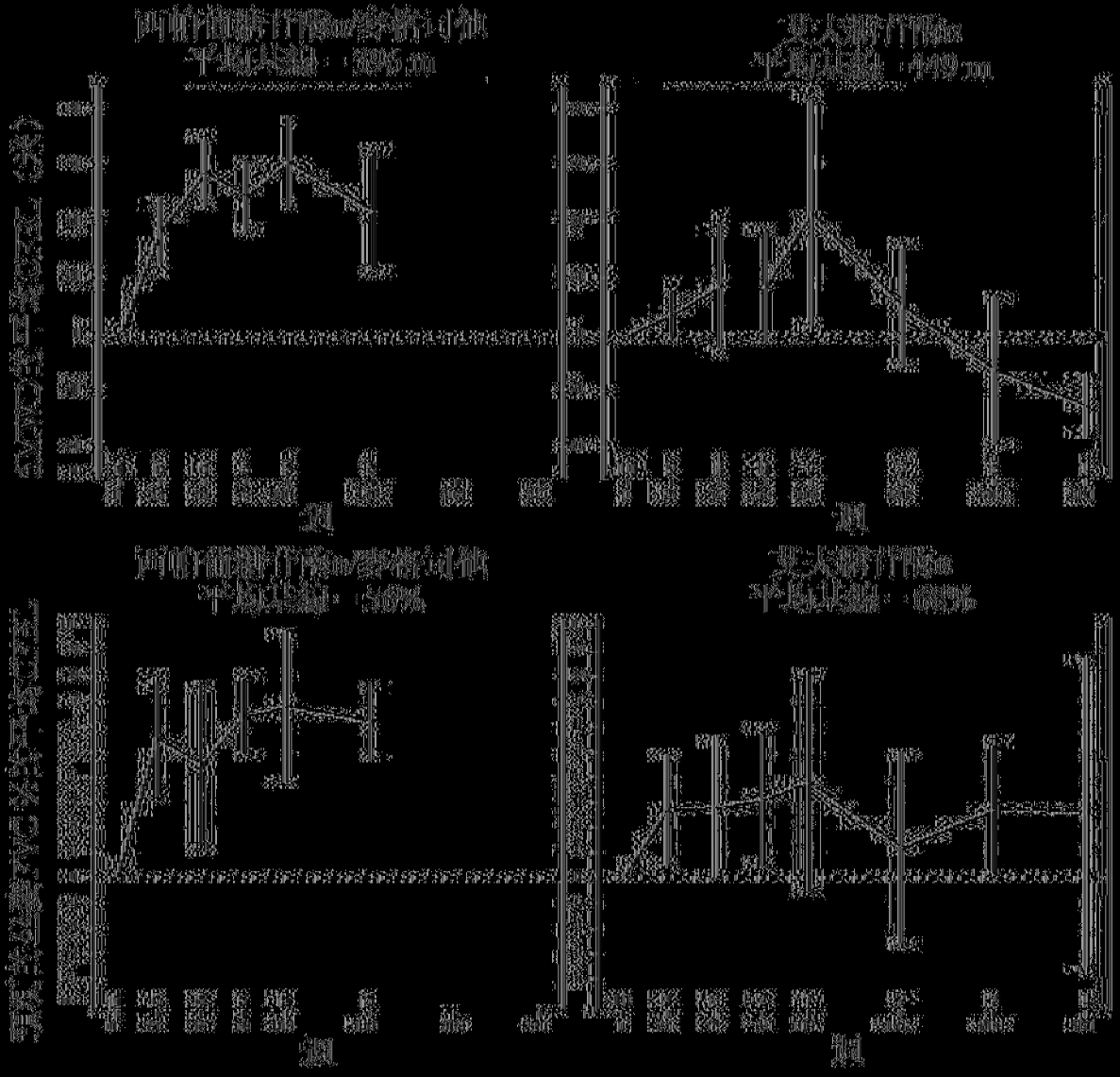
第66頁，共108頁(發明內文)

2024002.12.

（95頁）

| | |
|---|---|
| 第一章 | 第一章 |
| 第二章 | 第二章 |
| 第三章 | 第三章 |
| 第四章 | 第四章 |
| 第五章 | 第五章 |
| 第六章 | 第六章 |
| 第七章 | 第七章 |
| 第八章 | 第八章 |
| 第九章 | 第九章 |
| 第十章 | 第十章 |

圖 15.1


河南省鄭州市惠濟區某新村小學
平均氣溫：約295 m
圖1
某大學行政樓
平均氣溫：約449 m
圖1
河南省鄭州市惠濟區某新村小學
平均氣溫：約86%
圖1
某大學行政樓
平均氣溫：約68%
圖1

（圖52.）

| 第一欄 | 第二欄 | 第三欄 | 第四欄 | 第五欄 | 第六欄 | 第七欄 | 第八欄 | 第九欄 | 第十欄 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 第一列 | 甲 | 乙 | 丙 | 丁 | 戊 | 己 | 庚 | 辛 | 壬 |
| 第二列 | 子 | 丑 | 寅 | 卯 | 辰 | 巳 | 午 | 未 | 申 |
| 第三列 | 一 | 二 | 三 | 四 | 五 | 六 | 七 | 八 | 九 |
| 第四列 | 東 | 南 | 西 | 北 | 中 | 上 | 下 | 左 | 右 |
| 第五列 | 春 | 夏 | 秋 | 冬 | 晨 | 昏 | 晝 | 夜 | 年 |
| 第六列 | 山 | 水 | 火 | 土 | 木 | 金 | 石 | 田 | 雨 |
| 第七列 | 天 | 地 | 人 | 和 | 風 | 雲 | 雷 | 電 | 霜 |
| 第八列 | 一 | 二 | 三 | 四 | 五 | 六 | 七 | 八 | 九 |
| 第九列 | 子 | 丑 | 寅 | 卯 | 辰 | 巳 | 午 | 未 | 申 |
| 第十列 | 甲 | 乙 | 丙 | 丁 | 戊 | 己 | 庚 | 辛 | 壬 |

表 57

圖 1-69

圖 7

2024002.12.

(65圖)

(89 圖)

[69]

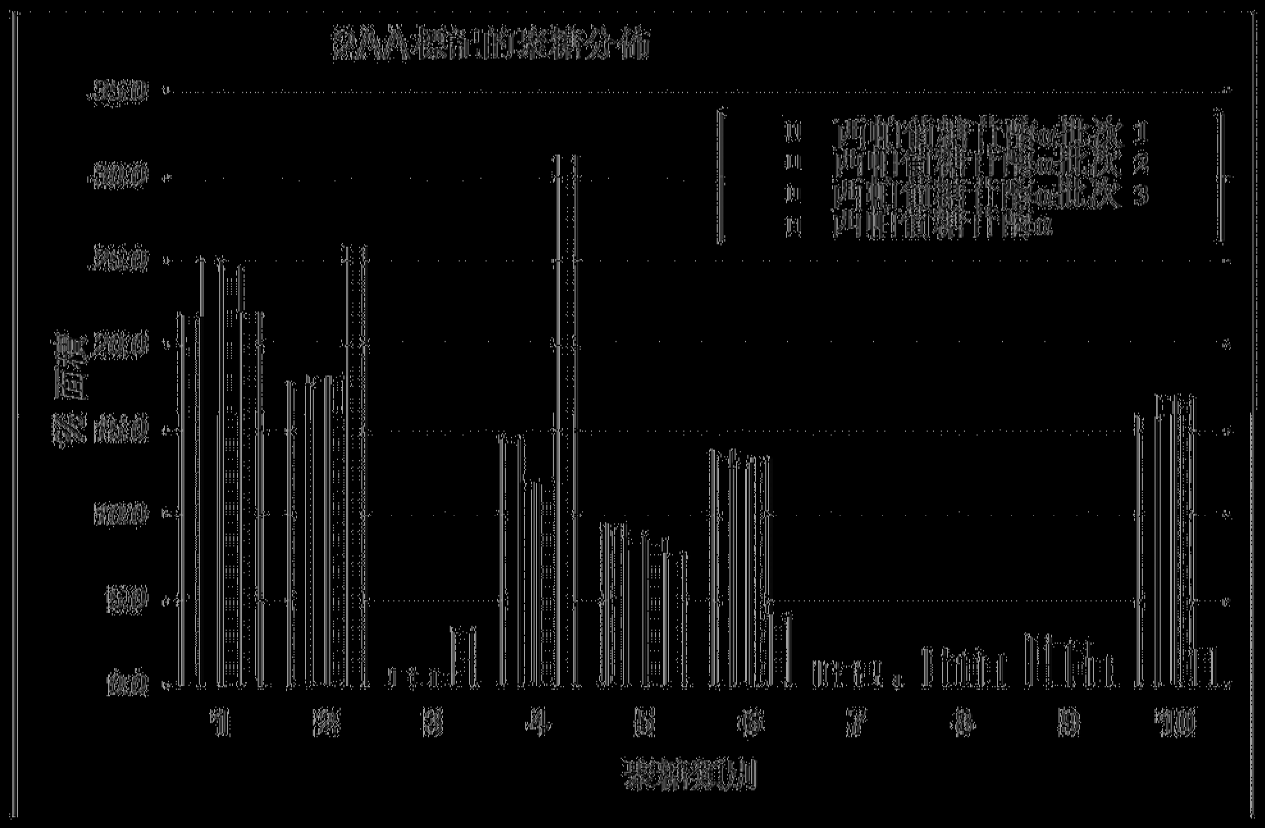
| | | | |
|---|---|---|---|
| 1 | 1 | 1 | 1 |
| 1 | 1 | 1 | 1 |
| 1 | 1 | 1 | 1 |

相對於A1T9200-05基因修飾的T細胞
在(T4-SIE)（活細胞的WT%）
相對於A1T9200-05基因修飾的T細胞
在(T4-SIE)（活細胞的WT%）

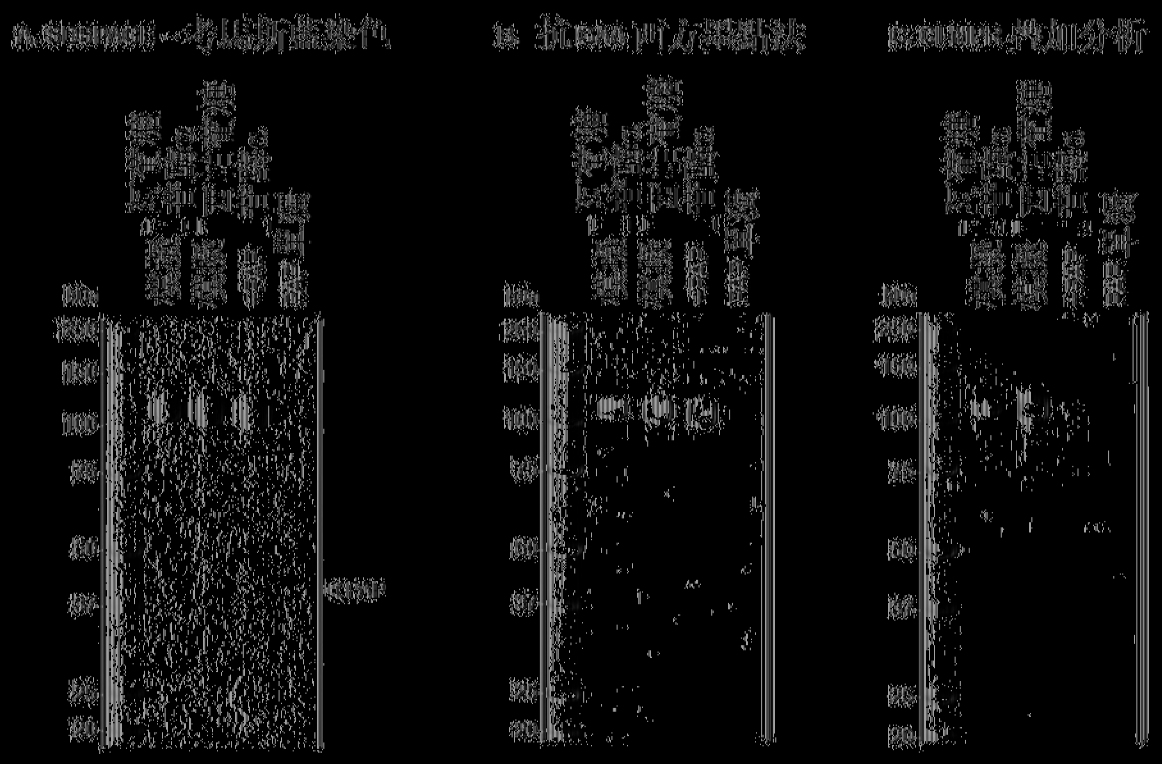
第1表

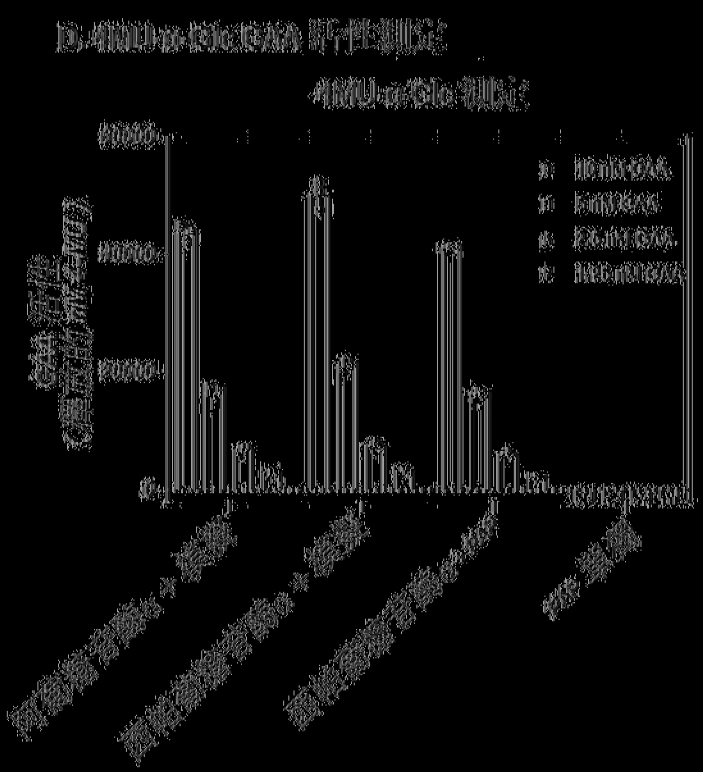
| | | |

圖 737

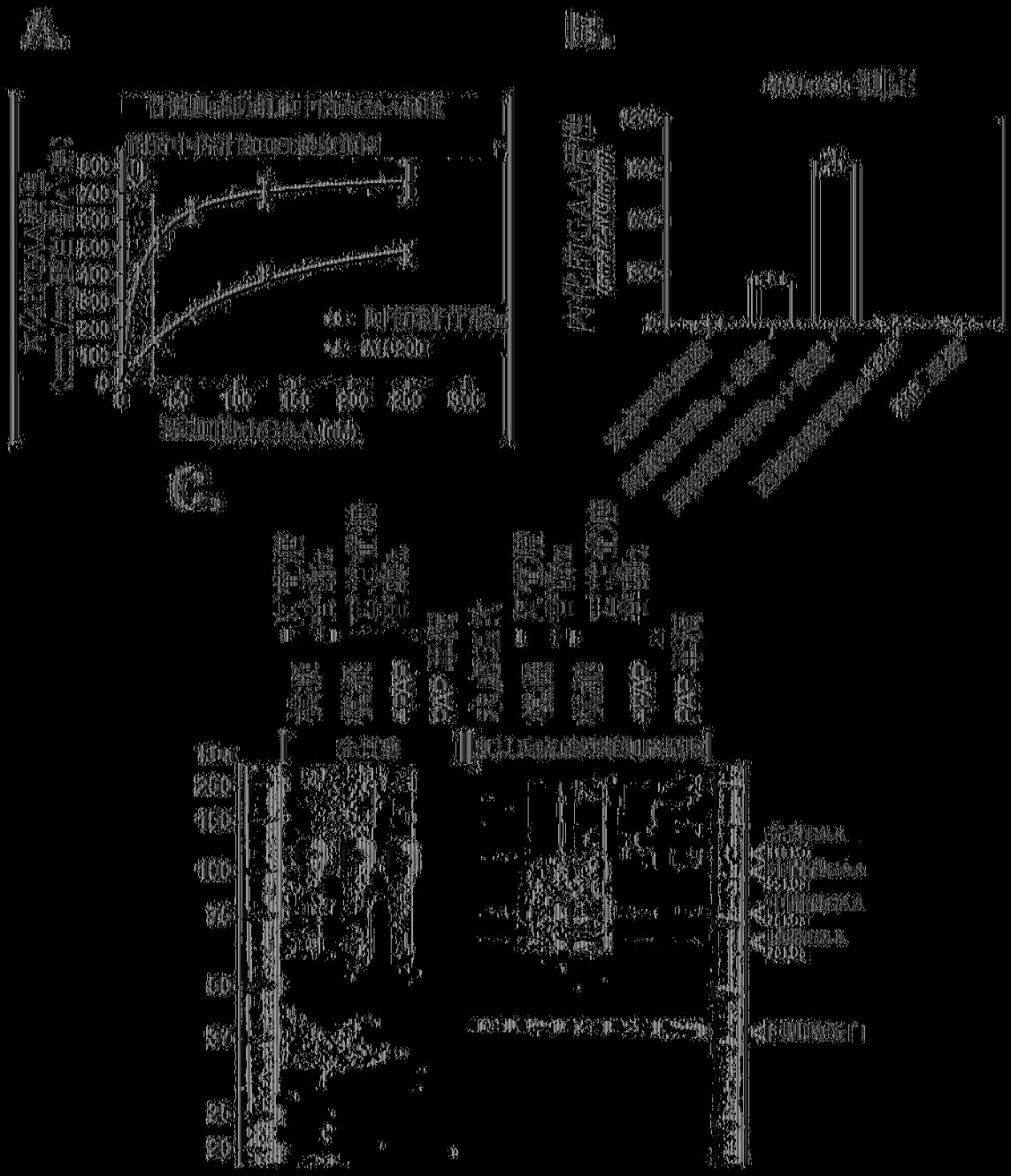



（圖15）



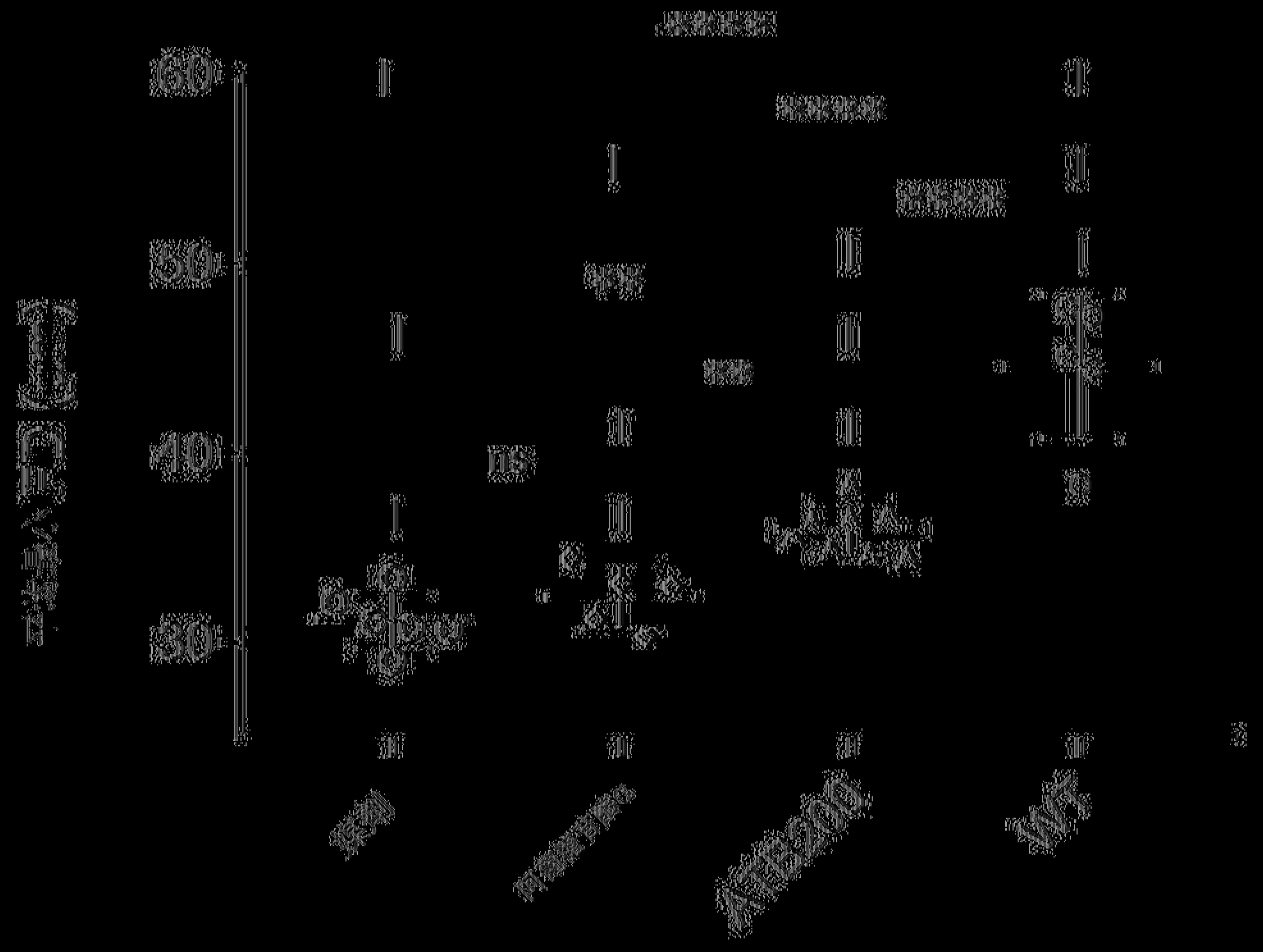


（圖16）



（圖17）

## 血液凝固大小分析




（圖/8）

圖 7(b)

圖 3.8.1

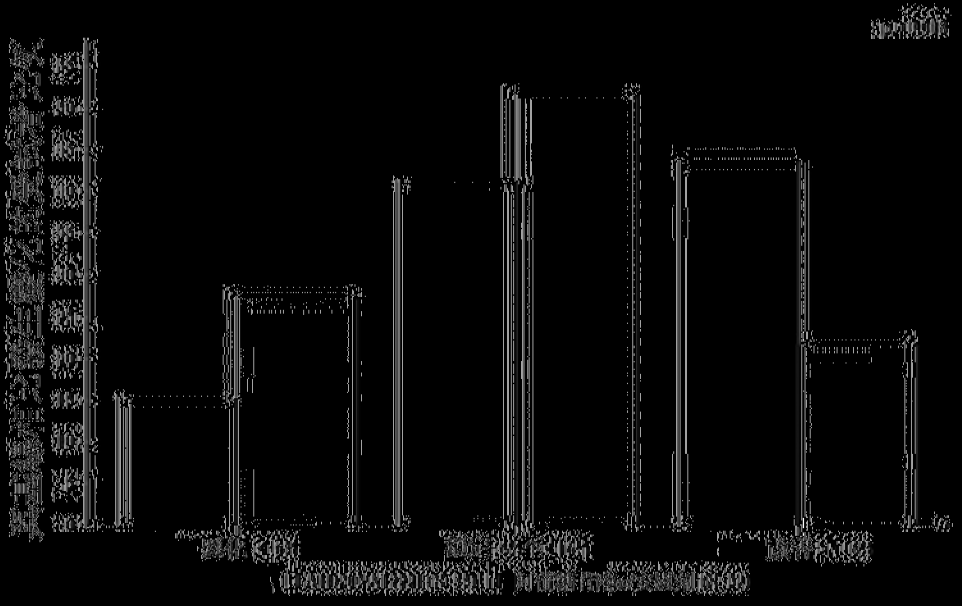
開始
結束
是
否
步驟 S1
步驟 S2
步驟 S3
步驟 S4
步驟 S5
步驟 S6
步驟 S7
步驟 S8
步驟 S9
步驟 S10
步驟 S11
步驟 S12
步驟 S13
步驟 S14
步驟 S15
步驟 S16
步驟 S17
步驟 S18
步驟 S19
步驟 S20
步驟 S21
步驟 S22
步驟 S23
步驟 S24
步驟 S25
步驟 S26
步驟 S27
步驟 S28
步驟 S29
步驟 S30
步驟 S31
步驟 S32
步驟 S33
步驟 S34
步驟 S35
步驟 S36
步驟 S37
步驟 S38
步驟 S39
步驟 S40
步驟 S41
步驟 S42
步驟 S43
步驟 S44
步驟 S45
步驟 S46
步驟 S47
步驟 S48
步驟 S49
步驟 S50
步驟 S51
步驟 S52
步驟 S53
步驟 S54
步驟 S55
步驟 S56
步驟 S57
步驟 S58
步驟 S59
步驟 S60
步驟 S61
步驟 S62
步驟 S63
步驟 S64
步驟 S65
步驟 S66
步驟 S67
步驟 S68
步驟 S69
步驟 S70
步驟 S71
步驟 S72
步驟 S73
步驟 S74
步驟 S75
步驟 S76
步驟 S77
步驟 S78
步驟 S79
步驟 S80
步驟 S81
步驟 S82
步驟 S83
步驟 S84
步驟 S85
步驟 S86
步驟 S87
步驟 S88
步驟 S89
步驟 S90
步驟 S91
步驟 S92
步驟 S93
步驟 S94
步驟 S95
步驟 S96
步驟 S97
步驟 S98
步驟 S99
步驟 S100
步驟 S101
步驟 S102
步驟 S103
步驟 S104
步驟 S105
步驟 S106
步驟 S107
步驟 S108
步驟 S109
步驟 S110
步驟 S111
步驟 S112
步驟 S113
步驟 S114
步驟 S115
步驟 S116
步驟 S117
步驟 S118
步驟 S119
步驟 S120
步驟 S121
步驟 S122
步驟 S123
步驟 S124
步驟 S125
步驟 S126
步驟 S127
步驟 S128
步驟 S129
步驟 S130
步驟 S131
步驟 S132
步驟 S133
步驟 S134
步驟 S135
步驟 S136
步驟 S137
步驟 S138
步驟 S139
步驟 S140
步驟 S141
步驟 S142
步驟 S143
步驟 S144
步驟 S145
步驟 S146
步驟 S147
步驟 S148
步驟 S149
步驟 S150
步驟 S151
步驟 S152
步驟 S153
步驟 S154
步驟 S155
步驟 S156
步驟 S157
步驟 S158
步驟 S159
步驟 S160
步驟 S161
步驟 S162
步驟 S163
步驟 S164
步驟 S165
步驟 S166
步驟 S167
步驟 S168
步驟 S169
步驟 S170
步驟 S171
步驟 S172
步驟 S173
步驟 S174
步驟 S175
步驟 S176
步驟 S177
步驟 S178
步驟 S179
步驟 S180
步驟 S181
步驟 S182
步驟 S183
步驟 S184
步驟 S185
步驟 S186
步驟 S187
步驟 S188
步驟 S189
步驟 S190
步驟 S191
步驟 S192
步驟 S193
步驟 S194
步驟 S195
步驟 S196
步驟 S197
步驟 S198
步驟 S199
步驟 S200
步驟 S201
步驟 S202
步驟 S203
步驟 S204
步驟 S205
步驟 S206
步驟 S207
步驟 S208
步驟 S209
步驟 S210
步驟 S211
步驟 S212
步驟 S213
步驟 S214
步驟 S215
步驟 S216
步驟 S217
步驟 S218
步驟 S219
步驟 S220
步驟 S221
步驟 S222
步驟 S223
步驟 S224
步驟 S225
步驟 S226
步驟 S227
步驟 S228
步驟 S229
步驟 S230
步驟 S231
步驟 S232
步驟 S233
步驟 S234
步驟 S235
步驟 S236
步驟 S237
步驟 S238
步驟 S239
步驟 S240
步驟 S241
步驟 S242
步驟 S243
步驟 S244
步驟 S245
步驟 S246
步驟 S247
步驟 S248
步驟 S249
步驟 S250
步驟 S251
步驟 S252
步驟 S253
步驟 S254
步驟 S255
步驟 S256
步驟 S257
步驟 S258
步驟 S259
步驟 S260
步驟 S261
步驟 S262
步驟 S263
步驟 S264
步驟 S265
步驟 S266
步驟 S267
步驟 S268
步驟 S269
步驟 S270
步驟 S271
步驟 S272
步驟 S273
步驟 S274
步驟 S275
步驟 S276
步驟 S277
步驟 S278
步驟 S279
步驟 S280
步驟 S281
步驟 S282
步驟 S283
步驟 S284
步驟 S285
步驟 S286
步驟 S287
步驟 S288
步驟 S289
步驟 S290
步驟 S291
步驟 S292
步驟 S293
步驟 S294
步驟 S295
步驟 S296
步驟 S297
步驟 S298
步驟 S299
步驟 S300
步驟 S301
步驟 S302
步驟 S303
步驟 S304
步驟 S305
步驟 S306
步驟 S307
步驟 S308
步驟 S309
步驟 S310
步驟 S311
步驟 S312
步驟 S313
步驟 S314
步驟 S315
步驟 S316
步驟 S317
步驟 S318
步驟 S319
步驟 S320
步驟 S321
步驟 S322
步驟 S323
步驟 S324
步驟 S325
步驟 S326
步驟 S327
步驟 S328
步驟 S329
步驟 S330
步驟 S331
步驟 S332
步驟 S333
步驟 S334
步驟 S335
步驟 S336
步驟 S337
步驟 S338
步驟 S339
步驟 S340
步驟 S341
步驟 S342
步驟 S343
步驟 S344
步驟 S345
步驟 S346
步驟 S347
步驟 S348
步驟 S349
步驟 S350
步驟 S351
步驟 S352
步驟 S353
步驟 S354
步驟 S355
步驟 S356
步驟 S357
步驟 S358
步驟 S359
步驟 S360
步驟 S361
步驟 S362
步驟 S363
步驟 S364
步驟 S365
步驟 S366
步驟 S367
步驟 S368
步驟 S369
步驟 S370
步驟 S371
步驟 S372
步驟 S373
步驟 S374
步驟 S375
步驟 S376
步驟 S377
步驟 S378
步驟 S379
步驟 S380
步驟 S381
步驟 S382
步驟 S383
步驟 S384
步驟 S385
步驟 S386
步驟 S387
步驟 S388
步驟 S389
步驟 S390
步驟 S391
步驟 S392
步驟 S393
步驟 S394
步驟 S395
步驟 S396
步驟 S397
步驟 S398
步驟 S399
步驟 S400
步驟 S401
步驟 S402
步驟 S403
步驟 S404
步驟 S405
步驟 S406
步驟 S407
步驟 S408
步驟 S409
步驟 S410
步驟 S411
步驟 S412
步驟 S413
步驟 S414
步驟 S415
步驟 S416
步驟 S417
步驟 S418
步驟 S419
步驟 S420
步驟 S421
步驟 S422
步驟 S423
步驟 S424
步驟 S425
步驟 S426
步驟 S427
步驟 S428
步驟 S429
步驟 S430
步驟 S431
步驟 S432
步驟 S433
步驟 S434
步驟 S435
步驟 S436
步驟 S437
步驟 S438
步驟 S439
步驟 S440
步驟 S441
步驟 S442
步驟 S443
步驟 S444
步驟 S445
步驟 S446
步驟 S447
步驟 S448
步驟 S449
步驟 S450
步驟 S451
步驟 S452
步驟 S453
步驟 S454
步驟 S455
步驟 S456
步驟 S457
步驟 S458
步驟 S459
步驟 S460
步驟 S461
步驟 S462
步驟 S463
步驟 S464
步驟 S465
步驟 S466
步驟 S467
步驟 S468
步驟 S469
步驟 S470
步驟 S471
步驟 S472
步驟 S473
步驟 S474
步驟 S475
步驟 S476
步驟 S477
步驟 S478
步驟 S479
步驟 S480
步驟 S481
步驟 S482
步驟 S483
步驟 S484
步驟 S485
步驟 S486
步驟 S487
步驟 S488
步驟 S489
步驟 S490
步驟 S491
步驟 S492
步驟 S493
步驟 S494
步驟 S495
步驟 S496
步驟 S497
步驟 S498
步驟 S499
步驟 S500
步驟 S501
步驟 S502
步驟 S503
步驟 S504
步驟 S505
步驟 S506
步驟 S507
步驟 S508
步驟 S509
步驟 S510
步驟 S511
步驟 S512
步驟 S513
步驟 S514
步驟 S515
步驟 S516
步驟 S517
步驟 S518
步驟 S519
步驟 S520
步驟 S521
步驟 S522
步驟 S523
步驟 S524
步驟 S525
步驟 S526
步驟 S527
步驟 S528
步驟 S529
步驟 S530
步驟 S531
步驟 S532
步驟 S533
步驟 S534
步驟 S535
步驟 S536
步驟 S537
步驟 S538
步驟 S539
步驟 S540
步驟 S541
步驟 S542
步驟 S543
步驟 S544
步驟 S545
步驟 S546
步驟 S547
步驟 S548
步驟 S549
步驟 S550
步驟 S551
步驟 S552
步驟 S553
步驟 S554
步驟 S555
步驟 S556
步驟 S557
步驟 S558
步驟 S559
步驟 S560
步驟 S561
步驟 S562
步驟 S563
步驟 S564
步驟 S565
步驟 S566
步驟 S567
步驟 S568
步驟 S569
步驟 S570
步驟 S571
步驟 S572
步驟 S573
步驟 S574
步驟 S575
步驟 S576
步驟 S577
步驟 S578
步驟 S579
步驟 S580
步驟 S581
步驟 S582
步驟 S583
步驟 S584
步驟 S585
步驟 S586
步驟 S587
步驟 S588
步驟 S589
步驟 S590
步驟 S591
步驟 S592
步驟 S593
步驟 S594
步驟 S595
步驟 S596
步驟 S597
步驟 S598
步驟 S599
步驟 S600
步驟 S601
步驟 S602
步驟 S603
步驟 S604
步驟 S605
步驟 S606
步驟 S607
步驟 S608
步驟 S609
步驟 S610
步驟 S611
步驟 S612
步驟 S613
步驟 S614
步驟 S615
步驟 S616
步驟 S617
步驟 S618
步驟 S619
步驟 S620
步驟 S621
步驟 S622
步驟 S623
步驟 S624
步驟 S625
步驟 S626
步驟 S627
步驟 S628
步驟 S629
步驟 S630
步驟 S631
步驟 S632
步驟 S633
步驟 S634
步驟 S635
步驟 S636
步驟 S637
步驟 S638
步驟 S639
步驟 S640
步驟 S641
步驟 S642
步驟 S643
步驟 S644
步驟 S645
步驟 S646
步驟 S647
步驟 S648
步驟 S649
步驟 S650
步驟 S651
步驟 S652
步驟 S653
步驟 S654
步驟 S655
步驟 S656
步驟 S657
步驟 S658
步驟 S659
步驟 S660
步驟 S661
步驟 S662
步驟 S663
步驟 S664
步驟 S665
步驟 S666
步驟 S667
步驟 S668
步驟 S669
步驟 S670
步驟 S671
步驟 S672
步驟 S673
步驟 S674
步驟 S675
步驟 S676
步驟 S677
步驟 S678
步驟 S679
步驟 S680
步驟 S681
步驟 S682
步驟 S683
步驟 S684
步驟 S685
步驟 S686
步驟 S687
步驟 S688
步驟 S689
步驟 S690
步驟 S691
步驟 S692
步驟 S693
步驟 S694
步驟 S695
步驟 S696
步驟 S697
步驟 S698
步驟 S699
步驟 S700
步驟 S701
步驟 S702
步驟 S703
步驟 S704
步驟 S705
步驟 S706
步驟 S707
步驟 S708
步驟 S709
步驟 S710
步驟 S711
步驟 S712
步驟 S713
步驟 S714
步驟 S715
步驟 S716
步驟 S717
步驟 S718
步驟 S719
步驟 S720
步驟 S721
步驟 S722
步驟 S723
步驟 S724
步驟 S725
步驟 S726
步驟 S727
步驟 S728
步驟 S729
步驟 S730
步驟 S731
步驟 S732
步驟 S733
步驟 S734
步驟 S735
步驟 S736
步驟 S737
步驟 S738
步驟 S739
步驟 S740
步驟 S741
步驟 S742
步驟 S743
步驟 S744
步驟 S745
步驟 S746
步驟 S747
步驟 S748
步驟 S749
步驟 S750
步驟 S751
步驟 S752
步驟 S753
步驟 S754
步驟 S755
步驟 S756
步驟 S757
步驟 S758
步驟 S759
步驟 S760
步驟 S761
步驟 S762
步驟 S763
步驟 S764
步驟 S765
步驟 S766
步驟 S767
步驟 S768
步驟 S769
步驟 S770
步驟 S771
步驟 S772
步驟 S773
步驟 S774
步驟 S775
步驟 S776
步驟 S777
步驟 S778
步驟 S779
步驟 S780
步驟 S781
步驟 S782
步驟 S783
步驟 S784
步驟 S785
步驟 S786
步驟 S787
步驟 S788
步驟 S789
步驟 S790
步驟 S791
步驟 S792
步驟 S793
步驟 S794
步驟 S795
步驟 S796
步驟 S797
步驟 S798
步驟 S799
步驟 S800
步驟 S801
步驟 S802
步驟 S803
步驟 S804
步驟 S805
步驟 S806
步驟 S807
步驟 S808
步驟 S809
步驟 S810
步驟 S811
步驟 S812
步驟 S813
步驟 S814
步驟 S815
步驟 S816
步驟 S817
步驟 S818
步驟 S819
步驟 S820
步驟 S821
步驟 S822
步驟 S823
步驟 S824
步驟 S825
步驟 S826
步驟 S827
步驟 S828
步驟 S829
步驟 S830
步驟 S831
步驟 S832
步驟 S833
步驟 S834
步驟 S835
步驟 S836
步驟 S837
步驟 S838
步驟 S839
步驟 S840
步驟 S841
步驟 S842
步驟 S843
步驟 S844
步驟 S845
步驟 S846
步驟 S847
步驟 S848
步驟 S849
步驟 S850
步驟 S851
步驟 S852
步驟 S853
步驟 S854
步驟 S855
步驟 S856
步驟 S857
步驟 S858
步驟 S859
步驟 S860
步驟 S861
步驟 S862
步驟 S863
步驟 S864
步驟 S865
步驟 S866
步驟 S867
步驟 S868
步驟 S869
步驟 S870
步驟 S871
步驟 S872
步驟 S873
步驟 S874
步驟 S875
步驟 S876
步驟 S877
步驟 S878
步驟 S879
步驟 S880
步驟 S881
步驟 S882
步驟 S883
步驟 S884
步驟 S885
步驟 S886
步驟 S887
步驟 S888
步驟 S889
步驟 S890
步驟 S891
步驟 S892
步驟 S893
步驟 S894
步驟 S895
步驟 S896
步驟 S897
步驟 S898
步驟 S899
步驟 S900
步驟 S901
步驟 S902
步驟 S903
步驟 S904
步驟 S905
步驟 S906
步驟 S907
步驟 S908
步驟 S909
步驟 S910
步驟 S911
步驟 S912
步驟 S913
步驟 S914
步驟 S915
步驟 S916
步驟 S917
步驟 S918
步驟 S919
步驟 S920
步驟 S921
步驟 S922
步驟 S923
步驟 S924
步驟 S925
步驟 S926
步驟 S927
步驟 S928
步驟 S929
步驟 S930
步驟 S931
步驟 S932
步驟 S933
步驟 S934
步驟 S935
步驟 S936
步驟 S937
步驟 S938
步驟 S939
步驟 S940
步驟 S941
步驟 S942
步驟 S943
步驟 S944
步驟 S945
步驟 S946
步驟 S947
步驟 S948
步驟 S949
步驟 S950
步驟 S951
步驟 S952
步驟 S953
步驟 S954
步驟 S955
步驟 S956
步驟 S957
步驟 S958
步驟 S959
步驟 S960
步驟 S961
步驟 S962
步驟 S963
步驟 S964
步驟 S965
步驟 S966
步驟 S967
步驟 S968
步驟 S969
步驟 S970
步驟 S971
步驟 S972
步驟 S973
步驟 S974
步驟 S975
步驟 S976
步驟 S977
步驟 S978
步驟 S979
步驟 S980
步驟 S981
步驟 S982
步驟 S983
步驟 S984
步驟 S985
步驟 S986
步驟 S987
步驟 S988
步驟 S989
步驟 S990
步驟 S991
步驟 S992
步驟 S993
步驟 S994
步驟 S995
步驟 S996
步驟 S997
步驟 S998
步驟 S999
步驟 S1000

圖 7

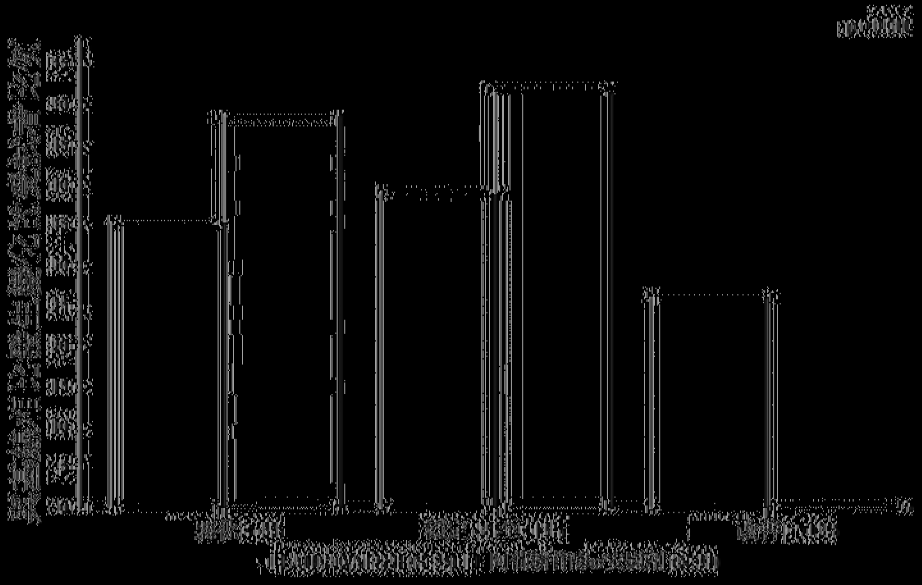
2024.02.12.

第一實施例
第二實施例
第三實施例
第四實施例
第五實施例
第六實施例
第七實施例
第八實施例
第九實施例
第十實施例
第十一實施例
第十二實施例
第十三實施例
第十四實施例
第十五實施例
第十六實施例
第十七實施例
第十八實施例
第十九實施例
第二十實施例
第二十一實施例
第二十二實施例
第二十三實施例
第二十四實施例
第二十五實施例
第二十六實施例
第二十七實施例
第二十八實施例
第二十九實施例
第三十實施例
第三十一實施例
第三十二實施例
第三十三實施例
第三十四實施例
第三十五實施例
第三十六實施例
第三十七實施例
第三十八實施例
第三十九實施例
第四十實施例
第四十一實施例
第四十二實施例
第四十三實施例
第四十四實施例
第四十五實施例
第四十六實施例
第四十七實施例
第四十八實施例
第四十九實施例
第五十實施例
第五十一實施例
第五十二實施例
第五十三實施例
第五十四實施例
第五十五實施例
第五十六實施例
第五十七實施例
第五十八實施例
第五十九實施例
第六十實施例
第六十一實施例
第六十二實施例
第六十三實施例
第六十四實施例
第六十五實施例
第六十六實施例
第六十七實施例
第六十八實施例
第六十九實施例
第七十實施例
第七十一實施例
第七十二實施例
第七十三實施例
第七十四實施例
第七十五實施例
第七十六實施例
第七十七實施例
第七十八實施例
第七十九實施例
第八十實施例
第八十一實施例
第八十二實施例
第八十三實施例
第八十四實施例
第八十五實施例
第八十六實施例
第八十七實施例
第八十八實施例
第八十九實施例
第九十實施例
第九十一實施例
第九十二實施例
第九十三實施例
第九十四實施例
第九十五實施例
第九十六實施例
第九十七實施例
第九十八實施例
第九十九實施例
第一百實施例
第一百一實施例
第一百二實施例
第一百三實施例
第一百四實施例
第一百五實施例
第一百六實施例
第一百七實施例
第一百八實施例
第一百九實施例
第一百十實施例
第一百十一實施例
第一百十二實施例
第一百十三實施例
第一百十四實施例
第一百十五實施例
第一百十六實施例
第一百十七實施例
第一百十八實施例
第一百十九實施例
第一百二十實施例
第一百二十一實施例
第一百二十二實施例
第一百二十三實施例
第一百二十四實施例
第一百二十五實施例
第一百二十六實施例
第一百二十七實施例
第一百二十八實施例
第一百二十九實施例
第一百三十實施例
第一百三十一實施例
第一百三十二實施例
第一百三十三實施例
第一百三十四實施例
第一百三十五實施例
第一百三十六實施例
第一百三十七實施例
第一百三十八實施例
第一百三十九實施例
第一百四十實施例
第一百四十一實施例
第一百四十二實施例
第一百四十三實施例
第一百四十四實施例
第一百四十五實施例
第一百四十六實施例
第一百四十七實施例
第一百四十八實施例
第一百四十九實施例
第一百五十實施例
第一百五十一實施例
第一百五十二實施例
第一百五十三實施例
第一百五十四實施例
第一百五十五實施例
第一百五十六實施例
第一百五十七實施例
第一百五十八實施例
第一百五十九實施例
第一百六十實施例
第一百六十一實施例
第一百六十二實施例
第一百六十三實施例
第一百六十四實施例
第一百六十五實施例
第一百六十六實施例
第一百六十七實施例
第一百六十八實施例
第一百六十九實施例
第一百七十實施例
第一百七十一實施例
第一百七十二實施例
第一百七十三實施例
第一百七十四實施例
第一百七十五實施例
第一百七十六實施例
第一百七十七實施例
第一百七十八實施例
第一百七十九實施例
第一百八十實施例
第一百八十一實施例
第一百八十二實施例
第一百八十三實施例
第一百八十四實施例
第一百八十五實施例
第一百八十六實施例
第一百八十七實施例
第一百八十八實施例
第一百八十九實施例
第一百九十實施例
第一百九十一實施例
第一百九十二實施例
第一百九十三實施例
第一百九十四實施例
第一百九十五實施例
第一百九十六實施例
第一百九十七實施例
第一百九十八實施例
第一百九十九實施例
第二百實施例
第二百一實施例
第二百二實施例
第二百三實施例
第二百四實施例
第二百五實施例
第二百六實施例
第二百七實施例
第二百八實施例
第二百九實施例
第二百十實施例
第二百十一實施例
第二百十二實施例
第二百十三實施例
第二百十四實施例
第二百十五實施例
第二百十六實施例
第二百十七實施例
第二百十八實施例
第二百十九實施例
第二百二十實施例
第二百二十一實施例
第二百二十二實施例
第二百二十三實施例
第二百二十四實施例
第二百二十五實施例
第二百二十六實施例
第二百二十七實施例
第二百二十八實施例
第二百二十九實施例
第二百三十實施例
第二百三十一實施例
第二百三十二實施例
第二百三十三實施例
第二百三十四實施例
第二百三十五實施例
第二百三十六實施例
第二百三十七實施例
第二百三十八實施例
第二百三十九實施例
第二百四十實施例
第二百四十一實施例
第二百四十二實施例
第二百四十三實施例
第二百四十四實施例
第二百四十五實施例
第二百四十六實施例
第二百四十七實施例
第二百四十八實施例
第二百四十九實施例
第二百五十實施例
第二百五十一實施例
第二百五十二實施例
第二百五十三實施例
第二百五十四實施例
第二百五十五實施例
第二百五十六實施例
第二百五十七實施例
第二百五十八實施例
第二百五十九實施例
第二百六十實施例
第二百六十一實施例
第二百六十二實施例
第二百六十三實施例
第二百六十四實施例
第二百六十五實施例
第二百六十六實施例
第二百六十七實施例
第二百六十八實施例
第二百六十九實施例
第二百七十實施例
第二百七十一實施例
第二百七十二實施例
第二百七十三實施例
第二百七十四實施例
第二百七十五實施例
第二百七十六實施例
第二百七十七實施例
第二百七十八實施例
第二百七十九實施例
第二百八十實施例
第二百八十一實施例
第二百八十二實施例
第二百八十三實施例
第二百八十四實施例
第二百八十五實施例
第二百八十六實施例
第二百八十七實施例
第二百八十八實施例
第二百八十九實施例
第二百九十實施例
第二百九十一實施例
第二百九十二實施例
第二百九十三實施例
第二百九十四實施例
第二百九十五實施例
第二百九十六實施例
第二百九十七實施例
第二百九十八實施例
第二百九十九實施例
第三百實施例
第三百一實施例
第三百二實施例
第三百三實施例
第三百四實施例
第三百五實施例
第三百六實施例
第三百七實施例
第三百八實施例
第三百九實施例
第三百十實施例
第三百十一實施例
第三百十二實施例
第三百十三實施例
第三百十四實施例
第三百十五實施例
第三百十六實施例
第三百十七實施例
第三百十八實施例
第三百十九實施例
第三百二十實施例
第三百二十一實施例
第三百二十二實施例
第三百二十三實施例
第三百二十四實施例
第三百二十五實施例
第三百二十六實施例
第三百二十七實施例
第三百二十八實施例
第三百二十九實施例
第三百三十實施例
第三百三十一實施例
第三百三十二實施例
第三百三十三實施例
第三百三十四實施例
第三百三十五實施例
第三百三十六實施例
第三百三十七實施例
第三百三十八實施例
第三百三十九實施例
第三百四十實施例
第三百四十一實施例
第三百四十二實施例
第三百四十三實施例
第三百四十四實施例
第三百四十五實施例
第三百四十六實施例
第三百四十七實施例
第三百四十八實施例
第三百四十九實施例
第三百五十實施例
第三百五十一實施例
第三百五十二實施例
第三百五十三實施例
第三百五十四實施例
第三百五十五實施例
第三百五十六實施例
第三百五十七實施例
第三百五十八實施例
第三百五十九實施例
第三百六十實施例
第三百六十一實施例
第三百六十二實施例
第三百六十三實施例
第三百六十四實施例
第三百六十五實施例
第三百六十六實施例
第三百六十七實施例
第三百六十八實施例
第三百六十九實施例
第三百七十實施例
第三百七十一實施例
第三百七十二實施例
第三百七十三實施例
第三百七十四實施例
第三百七十五實施例
第三百七十六實施例
第三百七十七實施例
第三百七十八實施例
第三百七十九實施例
第三百八十實施例
第三百八十一實施例
第三百八十二實施例
第三百八十三實施例
第三百八十四實施例
第三百八十五實施例
第三百八十六實施例
第三百八十七實施例
第三百八十八實施例
第三百八十九實施例
第三百九十實施例
第三百九十一實施例
第三百九十二實施例
第三百九十三實施例
第三百九十四實施例
第三百九十五實施例
第三百九十六實施例
第三百九十七實施例
第三百九十八實施例
第三百九十九實施例
第四百實施例
第四百一實施例
第四百二實施例
第四百三實施例
第四百四實施例
第四百五實施例
第四百六實施例
第四百七實施例
第四百八實施例
第四百九實施例
第四百十實施例
第四百十一實施例
第四百十二實施例
第四百十三實施例
第四百十四實施例
第四百十五實施例
第四百十六實施例
第四百十七實施例
第四百十八實施例
第四百十九實施例
第四百二十實施例
第四百二十一實施例
第四百二十二實施例
第四百二十三實施例
第四百二十四實施例
第四百二十五實施例
第四百二十六實施例
第四百二十七實施例
第四百二十八實施例
第四百二十九實施例
第四百三十實施例
第四百三十一實施例
第四百三十二實施例
第四百三十三實施例
第四百三十四實施例
第四百三十五實施例
第四百三十六實施例
第四百三十七實施例
第四百三十八實施例
第四百三十九實施例
第四百四十實施例
第四百四十一實施例
第四百四十二實施例
第四百四十三實施例
第四百四十四實施例
第四百四十五實施例
第四百四十六實施例
第四百四十七實施例
第四百四十八實施例
第四百四十九實施例
第四百五十實施例
第四百五十一實施例
第四百五十二實施例
第四百五十三實施例
第四百五十四實施例
第四百五十五實施例
第四百五十六實施例
第四百五十七實施例
第四百五十八實施例
第四百五十九實施例
第四百六十實施例
第四百六十一實施例
第四百六十二實施例
第四百六十三實施例
第四百六十四實施例
第四百六十五實施例
第四百六十六實施例
第四百六十七實施例
第四百六十八實施例
第四百六十九實施例
第四百七十實施例
第四百七十一實施例
第四百七十二實施例
第四百七十三實施例
第四百七十四實施例
第四百七十五實施例
第四百七十六實施例
第四百七十七實施例
第四百七十八實施例
第四百七十九實施例
第四百八十實施例
第四百八十一實施例
第四百八十二實施例
第四百八十三實施例
第四百八十四實施例
第四百八十五實施例
第四百八十六實施例
第四百八十七實施例
第四百八十八實施例
第四百八十九實施例
第四百九十實施例
第四百九十一實施例
第四百九十二實施例
第四百九十三實施例
第四百九十四實施例
第四百九十五實施例
第四百九十六實施例
第四百九十七實施例
第四百九十八實施例
第四百九十九實施例
第五百實施例
第五百一實施例
第五百二實施例
第五百三實施例
第五百四實施例
第五百五實施例
第五百六實施例
第五百七實施例
第五百八實施例
第五百九實施例
第五百十實施例
第五百十一實施例
第五百十二實施例
第五百十三實施例
第五百十四實施例
第五百十五實施例
第五百十六實施例
第五百十七實施例
第五百十八實施例
第五百十九實施例
第五百二十實施例
第五百二十一實施例
第五百二十二實施例
第五百二十三實施例
第五百二十四實施例
第五百二十五實施例
第五百二十六實施例
第五百二十七實施例
第五百二十八實施例
第五百二十九實施例
第五百三十實施例
第五百三十一實施例
第五百三十二實施例
第五百三十三實施例
第五百三十四實施例
第五百三十五實施例
第五百三十六實施例
第五百三十七實施例
第五百三十八實施例
第五百三十九實施例
第五百四十實施例
第五百四十一實施例
第五百四十二實施例
第五百四十三實施例
第五百四十四實施例
第五百四十五實施例
第五百四十六實施例
第五百四十七實施例
第五百四十八實施例
第五百四十九實施例
第五百五十實施例
第五百五十一實施例
第五百五十二實施例
第五百五十三實施例
第五百五十四實施例
第五百五十五實施例
第五百五十六實施例
第五百五十七實施例
第五百五十八實施例
第五百五十九實施例
第五百六十實施例
第五百六十一實施例
第五百六十二實施例
第五百六十三實施例
第五百六十四實施例
第五百六十五實施例
第五百六十六實施例
第五百六十七實施例
第五百六十八實施例
第五百六十九實施例
第五百七十實施例
第五百七十一實施例
第五百七十二實施例
第五百七十三實施例
第五百七十四實施例
第五百七十五實施例
第五百七十六實施例
第五百七十七實施例
第五百七十八實施例
第五百七十九實施例
第五百八十實施例
第五百八十一實施例
第五百八十二實施例
第五百八十三實施例
第五百八十四實施例
第五百八十五實施例
第五百八十六實施例
第五百八十七實施例
第五百八十八實施例
第五百八十九實施例
第五百九十實施例
第五百九十一實施例
第五百九十二實施例
第五百九十三實施例
第五百九十四實施例
第五百九十五實施例
第五百九十六實施例
第五百九十七實施例
第五百九十八實施例
第五百九十九實施例
第六百實施例
第六百一實施例
第六百二實施例
第六百三實施例
第六百四實施例
第六百五實施例
第六百六實施例
第六百七實施例
第六百八實施例
第六百九實施例
第六百十實施例
第六百十一實施例
第六百十二實施例
第六百十三實施例
第六百十四實施例
第六百十五實施例
第六百十六實施例
第六百十七實施例
第六百十八實施例
第六百十九實施例
第六百二十實施例
第六百二十一實施例
第六百二十二實施例
第六百二十三實施例
第六百二十四實施例
第六百二十五實施例
第六百二十六實施例
第六百二十七實施例
第六百二十八實施例
第六百二十九實施例
第六百三十實施例
第六百三十一實施例
第六百三十二實施例
第六百三十三實施例
第六百三十四實施例
第六百三十五實施例
第六百三十六實施例
第六百三十七實施例
第六百三十八實施例
第六百三十九實施例
第六百四十實施例
第六百四十一實施例
第六百四十二實施例
第六百四十三實施例
第六百四十四實施例
第六百四十五實施例
第六百四十六實施例
第六百四十七實施例
第六百四十八實施例
第六百四十九實施例
第六百五十實施例
第六百五十一實施例
第六百五十二實施例
第六百五十三實施例
第六百五十四實施例
第六百五十五實施例
第六百五十六實施例
第六百五十七實施例
第六百五十八實施例
第六百五十九實施例
第六百六十實施例
第六百六十一實施例
第六百六十二實施例
第六百六十三實施例
第六百六十四實施例
第六百六十五實施例
第六百六十六實施例
第六百六十七實施例
第六百六十八實施例
第六百六十九實施例
第六百七十實施例
第六百七十一實施例
第六百七十二實施例
第六百七十三實施例
第六百七十四實施例
第六百七十五實施例
第六百七十六實施例
第六百七十七實施例
第六百七十八實施例
第六百七十九實施例
第六百八十實施例
第六百八十一實施例
第六百八十二實施例
第六百八十三實施例
第六百八十四實施例
第六百八十五實施例
第六百八十六實施例
第六百八十七實施例
第六百八十八實施例
第六百八十九實施例
第六百九十實施例
第六百九十一實施例
第六百九十二實施例
第六百九十三實施例
第六百九十四實施例
第六百九十五實施例
第六百九十六實施例
第六百九十七實施例
第六百九十八實施例
第六百九十九實施例
第七百實施例
第七百一實施例
第七百二實施例
第七百三實施例
第七百四實施例
第七百五實施例
第七百六實施例
第七百七實施例
第七百八實施例
第七百九實施例
第七百十實施例
第七百十一實施例
第七百十二實施例
第七百十三實施例
第七百十四實施例
第七百十五實施例
第七百十六實施例
第七百十七實施例
第七百十八實施例
第七百十九實施例
第七百二十實施例
第七百二十一實施例
第七百二十二實施例
第七百二十三實施例
第七百二十四實施例
第七百二十五實施例
第七百二十六實施例
第七百二十七實施例
第七百二十八實施例
第七百二十九實施例
第七百三十實施例
第七百三十一實施例
第七百三十二實施例
第七百三十三實施例
第七百三十四實施例
第七百三十五實施例
第七百三十六實施例
第七百三十七實施例
第七百三十八實施例
第七百三十九實施例
第七百四十實施例
第七百四十一實施例
第七百四十二實施例
第七百四十三實施例
第七百四十四實施例
第七百四十五實施例
第七百四十六實施例
第七百四十七實施例
第七百四十八實施例
第七百四十九實施例
第七百五十實施例
第七百五十一實施例
第七百五十二實施例
第七百五十三實施例
第七百五十四實施例
第七百五十五實施例
第七百五十六實施例
第七百五十七實施例
第七百五十八實施例
第七百五十九實施例
第七百六十實施例
第七百六十一實施例
第七百六十二實施例
第七百六十三實施例
第七百六十四實施例
第七百六十五實施例
第七百六十六實施例
第七百六十七實施例
第七百六十八實施例
第七百六十九實施例
第七百七十實施例
第七百七十一實施例
第七百七十二實施例
第七百七十三實施例
第七百七十四實施例
第七百七十五實施例
第七百七十六實施例
第七百七十七實施例
第七百七十八實施例
第七百七十九實施例
第七百八十實施例
第七百八十一實施例
第七百八十二實施例
第七百八十三實施例
第七百八十四實施例
第七百八十五實施例
第七百八十六實施例
第七百八十七實施例
第七百八十八實施例
第七百八十九實施例
第七百九十實施例
第七百九十一實施例
第七百九十二實施例
第七百九十三實施例
第七百九十四實施例
第七百九十五實施例
第七百九十六實施例
第七百九十七實施例
第七百九十八實施例
第七百九十九實施例
第八百實施例
第八百一實施例
第八百二實施例
第八百三實施例
第八百四實施例
第八百五實施例
第八百六實施例
第八百七實施例
第八百八實施例
第八百九實施例
第八百十實施例
第八百十一實施例
第八百十二實施例
第八百十三實施例
第八百十四實施例
第八百十五實施例
第八百十六實施例
第八百十七實施例
第八百十八實施例
第八百十九實施例
第八百二十實施例
第八百二十一實施例
第八百二十二實施例
第八百二十三實施例
第八百二十四實施例
第八百二十五實施例
第八百二十六實施例
第八百二十七實施例
第八百二十八實施例
第八百二十九實施例
第八百三十實施例
第八百三十一實施例
第八百三十二實施例
第八百三十三實施例
第八百三十四實施例
第八百三十五實施例
第八百三十六實施例
第八百三十七實施例
第八百三十八實施例
第八百三十九實施例
第八百四十實施例
第八百四十一實施例
第八百四十二實施例
第八百四十三實施例
第八百四十四實施例
第八百四十五實施例
第八百四十六實施例
第八百四十七實施例
第八百四十八實施例
第八百四十九實施例
第八百五十實施例
第八百五十一實施例
第八百五十二實施例
第八百五十三實施例
第八百五十四實施例
第八百五十五實施例
第八百五十六實施例
第八百五十七實施例
第八百五十八實施例
第八百五十九實施例
第八百六十實施例
第八百六十一實施例
第八百六十二實施例
第八百六十三實施例
第八百六十四實施例
第八百六十五實施例
第八百六十六實施例
第八百六十七實施例
第八百六十八實施例
第八百六十九實施例
第八百七十實施例
第八百七十一實施例
第八百七十二實施例
第八百七十三實施例
第八百七十四實施例
第八百七十五實施例
第八百七十六實施例
第八百七十七實施例
第八百七十八實施例
第八百七十九實施例
第八百八十實施例
第八百八十一實施例
第八百八十二實施例
第八百八十三實施例
第八百八十四實施例
第八百八十五實施例
第八百八十六實施例
第八百八十七實施例
第八百八十八實施例
第八百八十九實施例
第八百九十實施例
第八百九十一實施例
第八百九十二實施例
第八百九十三實施例
第八百九十四實施例
第八百九十五實施例
第八百九十六實施例
第八百九十七實施例
第八百九十八實施例
第八百九十九實施例
第九百實施例
第九百一實施例
第九百二實施例
第九百三實施例
第九百四實施例
第九百五實施例
第九百六實施例
第九百七實施例
第九百八實施例
第九百九實施例
第九百十實施例
第九百十一實施例
第九百十二實施例
第九百十三實施例
第九百十四實施例
第九百十五實施例
第九百十六實施例
第九百十七實施例
第九百十八實施例
第九百十九實施例
第九百二十實施例
第九百二十一實施例
第九百二十二實施例
第九百二十三實施例
第九百二十四實施例
第九百二十五實施例
第九百二十六實施例
第九百二十七實施例
第九百二十八實施例
第九百二十九實施例
第九百三十實施例
第九百三十一實施例
第九百三十二實施例
第九百三十三實施例
第九百三十四實施例
第九百三十五實施例
第九百三十六實施例
第九百三十七實施例
第九百三十八實施例
第九百三十九實施例
第九百四十實施例
第九百四十一實施例
第九百四十二實施例
第九百四十三實施例
第九百四十四實施例
第九百四十五實施例
第九百四十六實施例
第九百四十七實施例
第九百四十八實施例
第九百四十九實施例
第九百五十實施例
第九百五十一實施例
第九百五十二實施例
第九百五十三實施例
第九百五十四實施例
第九百五十五實施例
第九百五十六實施例
第九百五十七實施例
第九百五十八實施例
第九百五十九實施例
第九百六十實施例
第九百六十一實施例
第九百六十二實施例
第九百六十三實施例
第九百六十四實施例
第九百六十五實施例
第九百六十六實施例
第九百六十七實施例
第九百六十八實施例
第九百六十九實施例
第九百七十實施例
第九百七十一實施例
第九百七十二實施例
第九百七十三實施例
第九百七十四實施例
第九百七十五實施例
第九百七十六實施例
第九百七十七實施例
第九百七十八實施例
第九百七十九實施例
第九百八十實施例
第九百八十一實施例
第九百八十二實施例
第九百八十三實施例
第九百八十四實施例
第九百八十五實施例
第九百八十六實施例
第九百八十七實施例
第九百八十八實施例
第九百八十九實施例
第九百九十實施例
第九百九十一實施例
第九百九十二實施例
第九百九十三實施例
第九百九十四實施例
第九百九十五實施例
第九百九十六實施例
第九百九十七實施例
第九百九十八實施例
第九百九十九實施例
第一千實施例

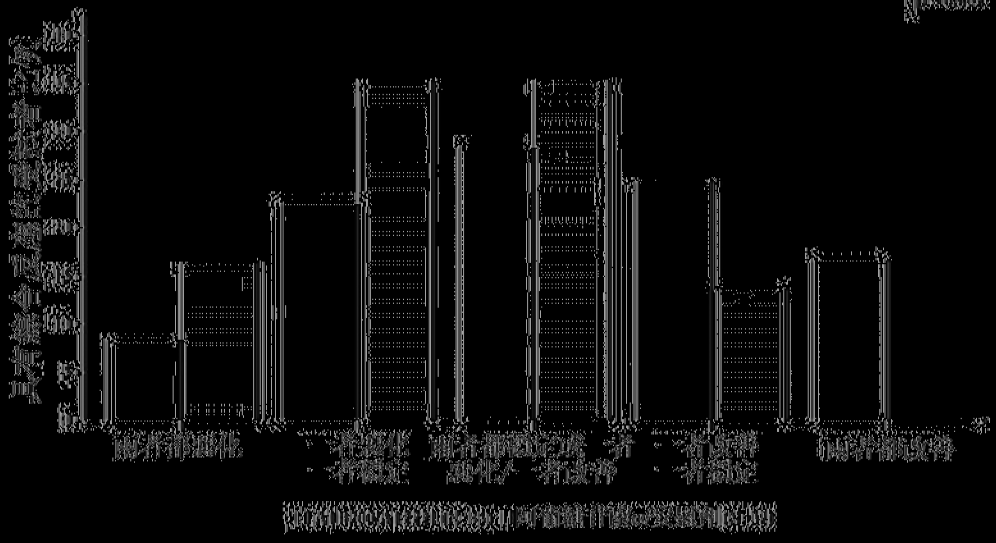
圖 1



（圖8/A）



（圖8/B）



（圖 8/C）

2024002.12.



第 106 頁，共 108 頁(發明專利)

TI2116800 表單編號 A0202 TI2322940 9-0

CK（COL）和基底層（ATB200 02）的厚度與時間的關係的下次分析（G 90）的範例（COLB）基礎層，不包括子公司005 25U）。請注ATB200 07



（圖90A）

Box4（mmol/mol測量）和基底層（ATB200 03）的厚度與時間的關係的下次分析（G 90）的範例（COLB）基礎層，不包括子公司005 25U）。請注ATB200 07



（圖90B）