



(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 202322814 A

(43) 公開日：中華民國 112 (2023) 年 06 月 16 日

(21) 申請案號：112104527

(22) 申請日：中華民國 107 (2018) 年 05 月 30 日

(51) Int. Cl. : A61K31/445 (2006.01)

A61P13/12 (2006.01)

A61P3/00 (2006.01)

(30) 優先權：2017/05/30 美國

62/512,458

2018/02/06 美國

62/626,953

(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：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：有 申請專利範圍項數：12 項 圖式數：15 共 117 頁

(54) 名稱

治療有腎損傷的法布里患者的方法

(57) 摘要

提供了用於治療患有腎損傷和/或蛋白尿升高的患者中的法布里病的方法。某些方法包括以每隔一天一次的頻率向患者投與約 100 至約 150 mg 游離鹼當量的米加司他或其鹽。某些方法還提供了使患者的腎功能穩定化、減少左心室質量指數、減少血漿球形三醯鞘胺醇和/或增加 α -半乳糖苷酶 A 活性。

Provided are methods for treatment of Fabry disease in a patient having renal impairment and/or elevated proteinuria. Certain methods comprise administering to the patient about 100 to about 150 mg free base equivalent of migalastat or salt thereof at a frequency of once every other day. Certain methods also provide for the stabilization of renal function, reducing left ventricular mass index, reducing plasma globotriaosylsphingosine and/or increasing α -galactosidase A activity in the patient.

指定代表圖：

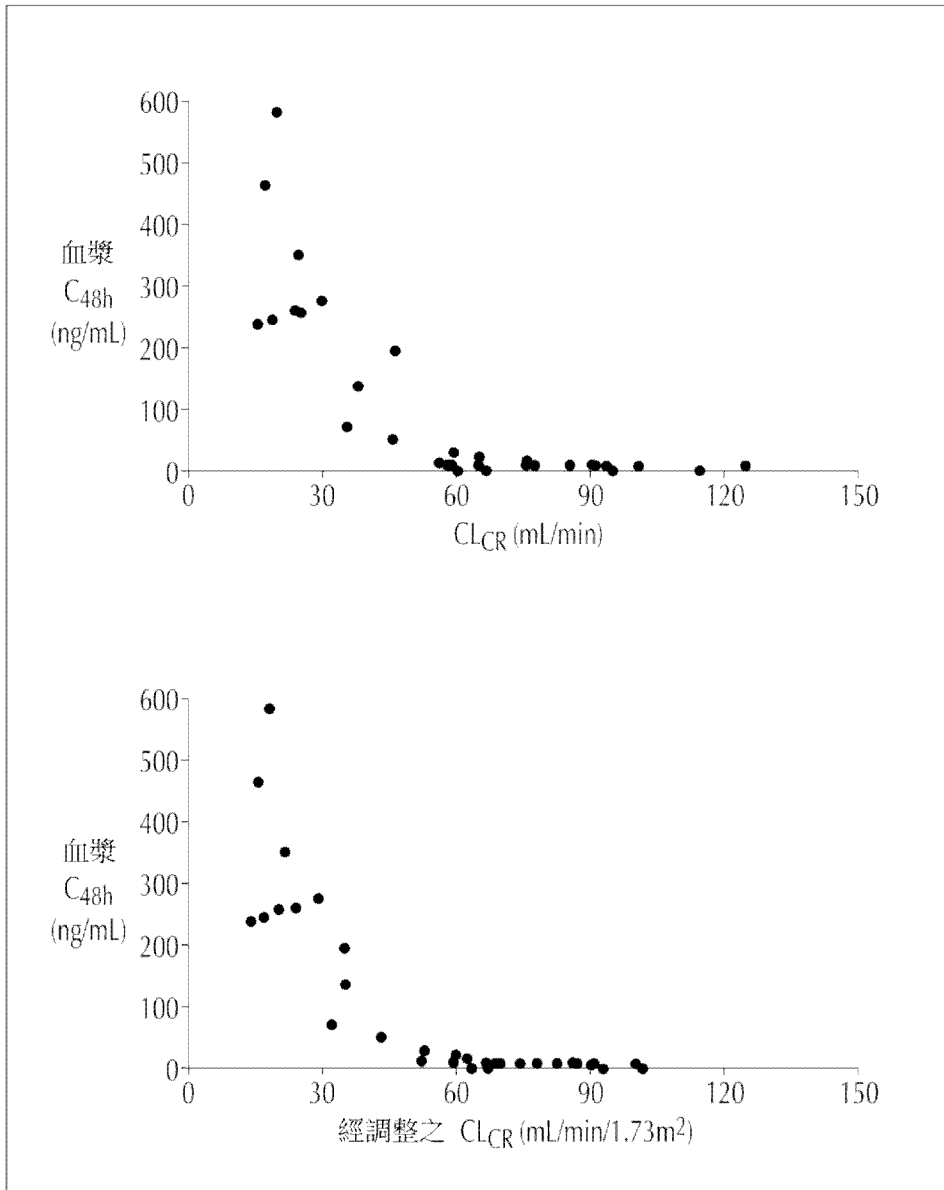


圖1A

【發明摘要】

【中文發明名稱】治療有腎損傷的法布里患者的方法

【英文發明名稱】METHODS OF TREATING FABRY PATIENTS HAVING
RENAL IMPAIRMENT

【中文】

提供了用於治療患有腎損傷和 / 或蛋白尿升高的患者中的法布里病的方法。某些方法包括以每隔一天一次的頻率向患者投與約 100 至約 150 mg 游離鹼當量的米加司他或其鹽。某些方法還提供了使患者的腎功能穩定化、減少左心室質量指數、減少血漿球形三醯鞘胺醇和 / 或增加 α -半乳糖苷酶 A 活性。

【英文】

Provided are methods for treatment of Fabry disease in a patient having renal impairment and/or elevated proteinuria. Certain methods comprise administering to the patient about 100 to about 150 mg free base equivalent of migalastat or salt thereof at a frequency of once every other day. Certain methods also provide for the stabilization of renal function, reducing left ventricular mass index, reducing plasma globotriaosylsphingosine and/or increasing α -galactosidase A activity in the patient.

【指定代表圖】第 (1A) 圖。

【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】治療有腎損傷的法布里患者的方法

【英文發明名稱】METHODS OF TREATING FABRY PATIENTS HAVING
RENAL IMPAIRMENT

【技術領域】

【0001】本發明的原理和實施例一般涉及藥用伴護蛋白用於治療法布里病的用途，特別是在具有不同程度的腎損傷的患者中。

【先前技術】

【0002】許多人類疾病由導致蛋白質胺基酸序列變化的突變引起，這些變化降低其穩定性並可能阻止其正確折疊。蛋白質通常在稱為內質網或ER的細胞特定區域中折疊。細胞具有品質控制機制，可以確保蛋白質在從ER移動到細胞中合適的目的地之前被折疊成正確的三維形狀，這一移動過程通常稱為蛋白質運輸。在最初被保留在ER中之後，錯誤折疊的蛋白質通常藉由品質控制機制來消除。在某些情況下，錯誤折疊的蛋白質在被消除之前可能積累在ER中。ER中錯誤折疊蛋白質的保留會中斷其正確的運輸，並且由此導致的生物活性降低可能導致細胞功能受損並最終導致疾病。另外，錯誤折疊蛋白質在ER中的積累可能導致對細胞的各種類型的壓力，這也可能導致細胞功能障礙和疾病。

【0003】此類突變可導致溶酶體貯積症(LSD)，其特徵在於由於編碼溶酶體酶的基因中的突變而導致溶酶體

酶缺乏。由此產生的疾病引起這些酶的受質的病理積累，這些受質包括脂質、碳水化合物和多醣。雖然有許多不同的突變基因型與每個 LSD 相關，但許多突變是錯義突變，可導致產生較不穩定的酶。這些不太穩定的酶有時被 ER 相關的降解途徑過早降解。這導致溶酶體中的酶缺乏以及受質的病理積累。這樣的突變酶在相關領域中有時被稱為「折疊突變體」或「構形突變體」。

【0004】 法布里病是由編碼 α -半乳糖苷酶 A (α -Gal A) 的 GLA 基因突變引起的 LSD。 α -Gal A 是醣神經鞘脂質代謝所必需的。這種突變導致受質球形三醣神經醯胺 (GL-3) 積累在各種組織和器官中。患有法布里病的男性是半合子，因為疾病基因編碼在 X 染色體上。據估計，在 40,000 和 60,000 男性中，法布里病影響 1 人，並且在女性中發生頻率較低。

【0005】 已經有幾種治療法布里病的方法。一種被認可的用於治療法布里病的療法是酶替代療法 (ERT)，其通常涉及靜脈內輸注純化形式的相應野生型蛋白質。兩種 α -Gal A 產品目前可用於治療法布里病：阿加糖酶 α (Replagal®，Shire Human Genetic Therapies) 和阿加糖酶 β (Fabrazyme®；Sanofi Genzyme Corporation)。然而，ERT 有幾個缺點。ERT 的主要併發症之一是輸注蛋白的快速降解，這導致需要無數次昂貴的高劑量輸注。ERT 還有一些額外的注意事項，例如大規模產生、純化和儲存適當折疊蛋白質的困難；獲得糖

基化的天然蛋白質；產生抗蛋白質免疫應答；和蛋白質不能穿過血腦屏障以減輕中樞神經系統病變(即低生物利用度)。此外，替代酶不能以足夠的量穿透心臟或腎臟以減少腎臟足細胞或心肌細胞中的受質積累，這在法布里病理學中顯著地出現。

【0006】 另一種治療某些酶缺乏的方法涉及使用小分子抑制劑來減少不充足酶蛋白的天然受質的產生，從而改善病理。這種「受質減少」方法已經針對包括醣神經鞘脂質貯積病症的約40種LSD的類型進行了具體描述。建議用作療法的小分子抑制劑對抑制參與醣脂質合成的酶是具有特異性的，從而減少需要藉由不充足酶來分解的細胞醣脂質的量。

【0007】 治療法布里病的第三種方法是用所謂的藥用伴護蛋白(PC)進行治療。這種PC包括 α -Gal A的小分子抑制劑，其可以結合 α -Gal A以增加突變酶和相應野生型的穩定性。

【0008】 目前的治療方法存在的一個問題是難以治療表現出腎損傷的患者，這在法布里患者中是非常常見的並且隨疾病而發展。平均而言，患者從正常的腎功能下降至嚴重的腎損傷需要大約10 - 20年的時間，一些國家報告的下降速度更快。據估計，約10%接受ERT的法布里患者可能有中度腎損傷。接受ERT的另外25%的男性和5%的女性估計腎小球濾過率(eGFR)小於30，相當於嚴重的

腎損傷甚至腎功能衰竭。其中約一半患有嚴重腎損傷，約一半患者正在接受透析治療。

【0009】不幸的是，儘管ERT治療，腎損傷仍將進展。eGFR為30的患者在2至5年內可能會惡化到需要透析的程度。接受ERT治療的患者中約有30%最終將進行透析或需要腎臟移植，這取決於ERT的開始。ERT開始地越早，腎功能可以保留的時間越長，但是由於法布里病罕見並且常常被誤診，所以可能會延遲ERT的開始。

【0010】此外，如上所述，ERT通常不能充分穿透腎臟以減少受質積累，從而在疾病進展期間可能進一步損傷。對於PC治療，腎臟通常是如何從身體清除藥物，腎損傷可能影響藥物藥代動力學和/或藥物藥效學。因此，仍然需要治療患有腎損傷的法布里患者的療法。

【發明內容】

【0011】本發明的各個態樣涉及使用米加司他治療患有腎損傷和/或升高的蛋白尿的法布里患者。這種治療可以包括穩定腎功能，降低左心室質量指數(LVMI)，減少血漿中的球形三醯鞘胺醇(溶酶體-Gb₃)和/或增加患者的 α -Gal A活性。

【0012】本發明的一個態樣涉及在患有腎損傷的患者中治療法布里病的方法，該方法包括以每隔一天一次的頻率向患者投與有效量的米加司他或其鹽。在一個或多個實施例中，有效量為約100 mg至約150 mg游離鹼當量(FBE)。

【0013】 在一個或多個實施例中，患者患有輕度或中度腎損傷。

【0014】 在一個或多個實施例中，患者患有輕度腎損傷。

【0015】 在一個或多個實施例中，患者患有中度腎損傷。

【0016】 在一個或多個實施例中，患者具有嚴重的腎損傷。

【0017】 在一個或多個實施例中，患者是經歷ERT的患者。

【0018】 在一個或多個實施例中，患者是ERT初治患者。

【0019】 在一個或多個實施例中，患者在開始投與米加司他或其鹽之前具有小於100 mg/24hr的蛋白尿水準。

【0020】 在一個或多個實施例中，患者在開始投與米加司他或其鹽之前具有100至1,000 mg/24hr的蛋白尿水準。

【0021】 在一個或多個實施例中，患者在開始投與米加司他或其鹽之前具有大於1,000 mg/24hr的蛋白尿水準。

【0022】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽增強患者中的 α -Gal A活性。在一個或多個實施例中， α -Gal A活性是白血球(WBC) α -Gal A活性。

【0023】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽的投與有效降低患者中的LVMI。

【0024】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽的投與有效穩定患者中的血漿溶酶體 - Gb₃。

【0025】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽的投與有效穩定患者的腎功能。

【0026】 在一個或多個實施例中，有效量為約123 mg FBE。

【0027】 在一個或多個實施例中，有效量為約123 mg 米加司他游離鹼。

【0028】 在一個或多個實施例中，米加司他的鹽是米加司他鹽酸鹽。

【0029】 在一個或多個實施例中，有效量為約150 mg 米加司他鹽酸鹽。

【0030】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽為口服劑型。在一個或多個實施例中，口服劑型包含錠劑、膠囊或溶液。

【0031】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽投與至少28天。

【0032】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽投與至少6個月。

【0033】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽投與至少12個月。

【0034】 本發明的另一態樣涉及米加司他用於穩定診斷為法布里病並具有腎損傷的患者的腎功能。在多個實施例中，該方法包括以每隔一天一次的頻率向患者投與約100 mg至約150 mg FBE的米加司他或其鹽。

【0035】 在一個或多個實施例中，患者患有輕度或中度腎損傷。

【0036】 在一個或多個實施例中，患者患有輕度腎損傷。

【0037】 在一個或多個實施例中，患者患有中度腎損傷。

【0038】 在一個或多個實施例中，患者具有嚴重的腎損傷。

【0039】 在一個或多個實施例中，患者是經歷ERT的患者。

【0040】 在一個或多個實施例中，患者是ERT初治患者。

【0041】 在一個或多個實施例中，患者在開始投與米加司他或其鹽之前具有小於100 mg/24hr的蛋白尿水準。

【0042】 在一個或多個實施例中，患者在開始投與米加司他或其鹽之前具有100至1,000 mg/24hr的蛋白尿水準。

【0043】 在一個或多個實施例中，患者在開始投與米加司他或其鹽之前具有大於1,000 mg/24hr的蛋白尿水準。

【0044】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽增強 α -Gal A 活性。

【0045】 在一個或多個實施例中，有效量為約 123 mg FBE。

【0046】 在一個或多個實施例中，有效量為約 123 mg 米加司他游離鹼。

【0047】 在一個或多個實施例中，米加司他的鹽是米加司他鹽酸鹽。

【0048】 在一個或多個實施例中，有效量為約 150 mg 米加司他鹽酸鹽。

【0049】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽為口服劑型。在一個或多個實施例中，口服劑型包含錠劑、膠囊或溶液。

【0050】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽投與至少 28 天。

【0051】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽投與至少 6 個月。

【0052】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽投與至少 12 個月。

【0053】 在一個或多個實施例中，將有效量的米加司他或其鹽投與於具有輕度或中度腎損傷的患者組中提供了大於 $-1.0 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ 的 $eGFR_{CKD-EPI}$ 的平均年化變化率。

【0054】 在一個或多個實施例中，將有效量的米加司他或其鹽投與於具有輕度腎損傷的患者組中提供了大於 $-1.0 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ 的 $\text{eGFR}_{\text{CKD-EPI}}$ 的平均年化變化率。

【0055】 在一個或多個實施例中，將有效量的米加司他或其鹽投與於具有中度腎損傷的患者組中提供了大於 $-1.0 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ 的 $\text{eGFR}_{\text{CKD-EPI}}$ 的平均年化變化率。

【0056】 本發明的另一態樣涉及米加司他用於穩定診斷為法布里病並具有腎損傷的患者中血漿溶酶體 - Gb_3 的用途。在多個實施例中，該方法包括以每隔一天一次的頻率向患者投與約 100 mg 至約 150 mg FBE 的米加司他或其鹽。

【0057】 在一個或多個實施例中，患者患有輕度或中度腎損傷。

【0058】 在一個或多個實施例中，患者患有輕度腎損傷。

【0059】 在一個或多個實施例中，患者患有中度腎損傷。

【0060】 在一個或多個實施例中，患者具有嚴重的腎損傷。

【0061】 在一個或多個實施例中，患者是經歷 ERT 的患者。

【0062】 在一個或多個實施例中，患者是ERT初治患者。

【0063】 在一個或多個實施例中，患者在開始投與米加司他或其鹽之前具有小於100 mg/24hr的蛋白尿水準。

【0064】 在一個或多個實施例中，患者在開始投與米加司他或其鹽之前具有100至1,000 mg/24hr的蛋白尿水準。

【0065】 在一個或多個實施例中，患者在開始投與米加司他或其鹽之前具有大於1,000 mg/24hr的蛋白尿水準。

【0066】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽增強 α -Gal A活性。

【0067】 在一個或多個實施例中，有效量為約123 mg FBE。

【0068】 在一個或多個實施例中，有效量為約123 mg米加司他游離鹼。

【0069】 在一個或多個實施例中，米加司他的鹽是米加司他鹽酸鹽。

【0070】 在一個或多個實施例中，有效量為約150 mg米加司他鹽酸鹽。

【0071】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽為口服劑型。在一個或多個實施例中，口服劑型包含錠劑、膠囊或溶液。

【0072】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽投與至少28天。

【0073】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽投與至少6個月。

【0074】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽投與至少12個月。

【0075】 在一個或多個實施例中，向具有中度腎損傷的ERT初治患者組投與有效量的米加司他或其鹽，在投與米加司他或其鹽24個月後提供至少約5 nmol/L的血漿溶酶體-Gb₃平均降低。

【0076】 本發明的另一態樣涉及使用米加司他降低被診斷為法布里病並具有腎損傷的患者中的LVMI。在多個實施例中，該方法包括以每隔一天一次的頻率向患者投與約100 mg至約150 mg FBE的米加司他或其鹽。

【0077】 在一個或多個實施例中，患者患有輕度或中度腎損傷。

【0078】 在一個或多個實施例中，患者患有輕度腎損傷。

【0079】 在一個或多個實施例中，患者患有中度腎損傷。

【0080】 在一個或多個實施例中，患者具有嚴重的腎損傷。

【0081】 在一個或多個實施例中，患者是經歷ERT的患者。

【0082】 在一個或多個實施例中，患者是ERT初治患者。

【0083】 在一個或多個實施例中，患者在開始投與米加司他或其鹽之前具有小於100 mg/24hr的蛋白尿水準。

【0084】 在一個或多個實施例中，患者在開始投與米加司他或其鹽之前具有100至1,000 mg/24hr的蛋白尿水準。

【0085】 在一個或多個實施例中，患者在開始投與米加司他或其鹽之前具有大於1,000 mg/24hr的蛋白尿水準。

【0086】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽增強 α -Gal A活性。

【0087】 在一個或多個實施例中，有效量為約123 mg FBE。

【0088】 在一個或多個實施例中，有效量為約123 mg米加司他游離鹼。

【0089】 在一個或多個實施例中，米加司他的鹽是米加司他鹽酸鹽。

【0090】 在一個或多個實施例中，有效量為約150 mg米加司他鹽酸鹽。

【0091】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽為口服劑型。在一個或多個實施例中，口服劑型包含錠劑、膠囊或溶液。

【0092】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽投與至少28天。

【0093】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽投與至少6個月。

【0094】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽投與至少12個月。

【0095】 在一個或多個實施例中，將有效量的米加司他或其鹽投與於具有中度腎損傷的ERT初治患者組後，在投與米加司他或其鹽24個月後LVMI的平均降低為至少約 2 g/m^2 。

【0096】 在一個或多個實施例中，將有效量的米加司他或其鹽投與具有中度腎損傷的經歷ERT的患者組，在投與米加司他或其鹽18個月後，LVMI的平均降低為至少約 2 g/m^2 。

【0097】 本發明的另一態樣涉及使用米加司他提高診斷為法布里病並且患有腎損傷的患者中的WBC α -Gal A活性。在多個實施例中，該方法包括以每隔一天一次的頻率向患者投與約100 mg至約150 mg FBE的米加司他或其鹽。

【0098】 在一個或多個實施例中，患者患有輕度或中度腎損傷。

【0099】 在一個或多個實施例中，患者患有輕度腎損傷。

【0100】 在一個或多個實施例中，患者患有中度腎損傷。

【0101】 在一個或多個實施例中，患者具有嚴重的腎損傷。

【0102】 在一個或多個實施例中，患者是經歷ERT的患者。

【0103】 在一個或多個實施例中，患者是ERT初治患者。

【0104】 在一個或多個實施例中，患者在開始投與米加司他或其鹽之前具有小於100 mg/24hr的蛋白尿水準。

【0105】 在一個或多個實施例中，患者在開始投與米加司他或其鹽之前具有100至1,000 mg/24hr的蛋白尿水準。

【0106】 在一個或多個實施例中，患者在開始投與米加司他或其鹽之前具有大於1,000 mg/24hr的蛋白尿水準。

【0107】 在一個或多個實施例中，有效量為約123 mg FBE。

【0108】 在一個或多個實施例中，有效量為約123 mg 米加司他游離鹼。

【0109】 在一個或多個實施例中，米加司他的鹽是米加司他鹽酸鹽。

【0110】 在一個或多個實施例中，有效量為約150 mg 米加司他鹽酸鹽。

【0111】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽為口服劑型。在一個或多個實施例中，口服劑型包含錠劑、膠囊或溶液。

【0112】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽投與至少28天。

【0113】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽投與至少6個月。

【0114】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽投與至少12個月。

【0115】 在一個或多個實施例中，將有效量的米加司他或其鹽投與具有中度腎損傷的ERT初治患者組，在投與米加司他或其鹽24個月後提供至少約1.4 MU/hr/mg的WBC α -Gal A活性的平均增加。

【0116】 在一個或多個實施例中，將有效量的米加司他或其鹽投與具有中度腎損傷的經歷ERT的患者組，在投與米加司他或其鹽18個月後提供至少約1.4 MU/hr/mg的WBC α -Gal A活性的平均增加。

【0117】 本發明的另一態樣涉及米加司他用於穩定診斷為法布里病並且蛋白尿升高的患者的腎功能。在多個實施例中，該方法包括以每隔一天一次的頻率向患者投與約100 mg至約150 mg FBE的米加司他或其鹽。

【0118】 在一個或多個實施例中，患者患有輕度或中度腎損傷。

【0119】 在一個或多個實施例中，患者患有輕度腎損傷。

【0120】 在一個或多個實施例中，患者患有中度腎損傷。

【0121】 在一個或多個實施例中，患者具有嚴重的腎損傷。

【0122】 在一個或多個實施例中，患者是經歷ERT的患者。

【0123】 在一個或多個實施例中，患者是ERT初治患者。

【0124】 在一個或多個實施例中，患者在開始投與米加司他或其鹽之前具有100至1,000 mg/24hr的蛋白尿水準。

【0125】 在一個或多個實施例中，患者在開始投與米加司他或其鹽之前具有大於1,000 mg/24hr的蛋白尿水準。

【0126】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽增強 α -Gal A活性。

【0127】 在一個或多個實施例中，有效量為約123 mg FBE。

【0128】 在一個或多個實施例中，有效量為約123 mg 米加司他游離鹼。

【0129】 在一個或多個實施例中，米加司他的鹽是米加司他鹽酸鹽。

【0130】 在一個或多個實施例中，有效量為約150 mg 米加司他鹽酸鹽。

【0131】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽為口服劑型。在一個或多個實施例中，口服劑型包含錠劑、膠囊或溶液。

【0132】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽投與至少28天。

【0133】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽投與至少6個月。

【0134】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽投與至少12個月。

【0135】 在一個或多個實施例中，向在開始投與米加司他或其鹽之前具有100至1,000 mg/24hr的蛋白尿水準的患者組投與有效量的米加司他或其鹽，提供大於-2.0 mL/min/1.73 m²的eGFR_{CKD-EPI}的平均年化變化率。

【0136】 在一個或多個實施例中，向在開始投與米加司他或其鹽之前具有大於1,000 mg/24hr的蛋白尿水準的患者組投與有效量的米加司他或其鹽，提供大於-5.0 mL/min/1.73 m²的eGFR_{CKD-EPI}的平均年化變化率。

【0137】 本發明的另一態樣涉及用於治療蛋白尿升高的患者中的法布里病的方法，該方法包括以每隔一天一次的頻率給予患者有效量的米加司他或其鹽。在一個或多個實施例中，有效量為約100 mg至約150 mg FBE。

【0138】 在一個或多個實施例中，患者患有輕度或中度腎損傷。

【0139】 在一個或多個實施例中，患者患有輕度腎損傷。

【0140】 在一個或多個實施例中，患者患有中度腎損傷。

【0141】 在一個或多個實施例中，患者具有嚴重的腎損傷。

【0142】 在一個或多個實施例中，患者是經歷ERT的患者。

【0143】 在一個或多個實施例中，患者是ERT初治患者。

【0144】 在一個或多個實施例中，患者在開始投與米加司他或其鹽之前具有100至1,000 mg/24hr的蛋白尿水準。

【0145】 在一個或多個實施例中，患者在開始投與米加司他或其鹽之前具有大於1,000 mg/24hr的蛋白尿水準。

【0146】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽增強 α -Gal A活性。

【0147】 在一個或多個實施例中，有效量為約123 mg FBE。

【0148】 在一個或多個實施例中，有效量為約123 mg 米加司他游離鹼。

【0149】 在一個或多個實施例中，米加司他的鹽是米加司他鹽酸鹽。

【0150】 在一個或多個實施例中，有效量為約150 mg 米加司他鹽酸鹽。

【0151】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽為口服劑型。在一個或多個實施例中，口服劑型包含錠劑、膠囊或溶液。

【0152】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽投與至少28天。

【0153】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽投與至少6個月。

【0154】 在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽投與至少12個月。

【0155】 在一個或多個實施例中，向在開始投與米加司他或其鹽之前具有100至1,000 mg/24hr的蛋白尿水準的患者組投與有效量的米加司他或其鹽，提供大於-2.0 mL/min/1.73 m²的eGFR_{CKD-EPI}的平均年化變化率。

【0156】 在一個或多個實施例中，向在開始投與米加司他或其鹽之前具有大於1,000 mg/24hr的蛋白尿水準的患者組投與有效量的米加司他或其鹽，提供大於-5.0 mL/min/1.73 m²的eGFR_{CKD-EPI}的平均年化變化率。

【0157】 以下列出各種實施例。應該理解，下面列出的實施例不僅可以如下列出的那樣進行組合，而且可以根據本發明的範圍以其他合適的組合進行組合。

【圖式簡單說明】

【0158】 圖1A顯示隨著 CL_{CR} 而變化的具有不同程度腎損傷的非法布里病患者的米加司他血漿濃度；

【0159】 圖1B顯示隨著給藥後時間而變化的不同程度腎損傷的非法布里患者的米加司他血漿濃度；

【0160】 圖1C示出了具有不同程度的腎損傷的非法布里患者的曲線下面積(AUC)；

【0161】 圖2顯示隨著時間而變化的具有中度至重度腎損傷的患者的米加司他濃度；

【0162】 圖3顯示了具有不同程度腎損傷的非法布里病患者 $AUC_{0-\infty}$ 和48小時後米加司他濃度之間的相關性；

【0163】 圖4顯示對於具有不同程度腎損傷的非法布里病患者和兩名患有腎損傷的法布里病患者，隨著 $eGFR_{MDRD}$ 而變化的48小時後血漿米加司他濃度；

【0164】 圖5顯示了具有不同程度腎損傷的非法布里病患者和兩名患有腎損傷的法布里病患者的血漿 $AUC_{0-\infty}$ ；

【0165】 圖6A-D分別顯示正常、重度、輕度和中度腎受損受試者的模擬中位數和觀察到的米加司他濃度與時間的關係；

【0166】 圖7A-D分別顯示正常、輕度、中度和重度腎受損受試者的模擬 C_{max} ，AUC， C_{min} 和 C_{48} ；

【0167】 圖8A-D分別顯示正常、重度、輕度和中度腎臟受損受試者的QOD的穩態預測；

【0168】 圖9A-D分別顯示正常、輕度、中度和重度腎臟受損受試者的 C_{max} ，AUC， C_{min} 和 C_{48} ；

【0169】 圖10A-B顯示了兩項調查法布里患者使用米加司他的研究的研究設計；

【0170】 圖11顯示具有正常腎功能和輕度和中度腎損傷的米加司他治療的法布里患者 $eGFR_{CKD-EPI}$ 的年化變化率；

【0171】 圖12A-B分別顯示正常腎功能和腎損傷的米加司他治療和ERT的法布里患者的 $eGFR_{CKD-EPI}$ 和 $mGFR_{\text{碘苯六醇}}$ 的年化變化率；

【0172】 圖13顯示具有正常腎功能和輕度和中度腎損傷的米加司他治療和ERT的法布里患者的 $eGFR_{CKD-EPI}$ 的年化變化率；

【0173】 圖14A-E顯示人野生型GLA基因(SEQ ID NO: 1)的完整DNA序列；和

【0174】 圖15顯示野生型GLA蛋白質(SEQ ID NO: 2)。

【實施方式】

【0175】 在描述本發明的幾個示例性實施例之前，應該理解，本發明不限於以下描述中闡述的構造或處理步驟的細節。本發明能夠有其他實施例且能夠實踐或能夠以各種方式進行。

【0176】 令人驚訝地發現，在具有輕度和中度腎損傷的法布里患者中，米加司他治療穩定腎功能，降低LVMI，降低血漿溶酶體-Gb₃並增加WBC α-Gal A活性。因此，本發明的各個態樣涉及具有腎損傷的法布里患者的米加司他的特定給藥方案。米加司他是一種用於治療法布里病的藥用伴護蛋白。這種藥用伴護蛋白通常由腎臟從體內清除。然而，腎損傷的患者(法布里患者常見的問題)可能無法清除身體內的米加司他，以前並不知道法布里病和腎損傷的患者如何對米加司他治療產生反應。因為藥用伴護蛋白也是抑制劑，所以平衡藥用伴護蛋白如米加司他的酶增強和抑制作用是非常困難的。此外，由於法布里病和腎功能之間複雜的相互作用，以及缺乏對藥用伴護蛋白作用的知識，因此在沒有重要的臨床資料和/或電腦建模的情況下，對患有腎損傷的法布里患者的米加司他給藥是困難的。

【0177】 因此，本發明的態樣涉及使用米加司他或其鹽治療具有腎損傷和/或升高的蛋白尿的法布里患者的方法，例如藉由穩定腎功能，減少LVMI，減少血漿溶酶體-Gb₃和/或在患者中的α-Gal A活性。

【0178】 在一個或多個實施例中，該方法包括以每隔一天一次的頻率向患者投與約100 mg至約150 mg FBE的米加司他或其鹽。患者可能有輕度，中度或重度腎損傷。在一個或多個實施例中，患者患有輕度或中度腎損

傷。在具體的實施例中，患者患有輕度腎損傷。在其他具體的實施例中，患者患有中度腎損傷。

定義

【0179】 本說明書中使用的術語在本發明的上下文中以及在使用每個術語的具體上下文中通常具有其在此項技術中的普通含義。以下或在說明書的其它地方討論了某些術語，以便在描述本發明的組合物和方法以及如何製造和使用它們時向從業者提供額外的指導。

【0180】 術語「法布里病」是指由於不充足溶酶體 α -Gal A 活性而引起的醣神經鞘脂質分解代謝的 X 連鎖先天性錯誤。這種缺陷導致受質球形三醣神經醯胺（「GL-3」，也被稱為Gb₃或神經醯胺三己糖苷）和相關醣神經鞘脂質在心臟，腎臟，皮膚和其他組織的血管內皮溶酶體中積累。該酶的另一受質是血漿球形三醣鞘胺醇（「血漿溶酶體-Gb₃」）。

【0181】 「攜帶者」是具有缺陷 α -Gal A 基因的一個 X 染色體和正常基因的一個 X 染色體並且正常等位基因的 X 染色體失活存在於一種或多種細胞類型的女性。攜帶者經常被診斷為法布里病。

【0182】 「患者」是指已經被診斷患有或懷疑患有特定疾病的受試者。患者可能是人或動物。

【0183】 「法布里患者」是指已被診斷患有或懷疑患有法布里病並具有如下進一步定義的突變 α -Gal A 的個體。法布里病的特徵性標誌物可以以相同流行率發生在男

性半合子和女性攜帶者中，但是女性通常受到的影響較小。

【0184】術語「ERT初治患者」是指在開始米加司他治療之前從未接受過ERT或至少6個月未接受過ERT的法布里患者。

【0185】術語「經歷ERT的患者」是指在開始米加司他治療之前立即接受ERT的法布里患者。在一些實施例中，經歷ERT的患者在開始米加司他治療之前立即接受至少12個月的ERT。

【0186】人類 α -半乳糖苷酶A(α -Gal A)是指由人類GLA基因編碼的酶。包含內含子和外顯子的 α -Gal A的完整DNA序列可從GenBank登錄號X14448.1獲得並顯示在SEQ ID NO: 1和圖14A-E中。人 α -Gal A酶由429個胺基酸組成，並且可在GenBank登錄號X14448.1和U78027.1中獲得，並在SEQ ID NO: 2和圖15中示出。

【0187】術語「突變蛋白質」包括在編碼蛋白質的基因中具有突變的蛋白質，其導致蛋白質在ER中通常存在的條件下不能實現穩定構形。未能獲得穩定的構形導致大量的酶被降解，而不是被運輸到溶酶體。這種突變有時被稱為「構形突變體」。這樣的突變包括但不限於錯義突變，和框內小的缺失和插入。

【0188】如本文所用，在一個實施例中，術語「突變 α -Gal A」包括在編碼 α -Gal A的基因中具有突變的 α

- Gal A，其導致酶在通常存在於ER中的條件下不能獲得穩定構形。未能獲得穩定的構形導致大量的酶被降解，而不是被運輸到溶酶體。

【0189】如本文所用，術語「特定藥用伴護蛋白」（「SPC」）或「藥用伴護蛋白」（「PC」）是指包括特異性結合至蛋白質，並具有一種或多種下列作用的任何分子包括小分子，蛋白質，肽，核酸，碳水化合物等：(i)增強蛋白質穩定分子構形的形成；(ii)誘導蛋白質從ER向另一個細胞位置，較佳天然細胞位置的運輸，即，阻止蛋白質的ER相關降解；(iii)防止錯誤折疊蛋白質的聚集；和/或(iv)恢復或增強蛋白質的至少部分野生型功能和/或活性。特異性結合例如 α -Gal A的化合物意指其結合並對該酶產生伴護蛋白作用，而不是相關或不相關酶的一般組。更具體地說，該術語不是指內源伴護蛋白如BiP，或者是指已經證明對各種蛋白質非特異性伴護蛋白活性的非特異性試劑如甘油，DMSO或氘化水，即化學伴護蛋白。在本發明的一個或多個實施例中，PC可以是可逆競爭性抑制劑。

【0190】酶的「競爭性抑制劑」可以指結構上類似於酶受質的化學結構和分子幾何結構以在與受質大約相同的位置結合酶的化合物。因此，抑制劑與受質分子競爭相同的活性位點，從而增加 K_m 。如果有足夠的受質分子取代抑制劑，即競爭性抑制劑可逆結合，則競爭性抑制通常是

可逆的。因此，酶抑制的量取決於抑制劑濃度，受質濃度以及抑制劑和受質對活性位點的相對親和力。

【0191】 如本文所用，術語「特異性結合」是指藥用伴護蛋白與蛋白質例如 α -Gal A 的相互作用，具體而言，是指與直接參與接觸藥用伴護蛋白的蛋白質的胺基酸殘基的相互作用。藥用伴護蛋白特異性結合目標蛋白質，例如 α -Gal A，以對蛋白質產生伴護蛋白效應，而不是相關或不相關蛋白質的一般組。與任何給定藥用伴護蛋白相互作用的蛋白質的胺基酸殘基可能或可能不在蛋白質的「活性位點」內。可以藉由常規結合分析或藉由結構研究（例如共結晶，NMR等）評估特異性結合。 α -Gal A 的活性位點是受質結合位點。

【0192】 「不充足的 α -Gal A 活性」是指（使用相同的方法）與沒有或懷疑有法布里或任何其他疾病（特別是血液疾病）的正常個體中的活性相比，來自患者的細胞中的 α -Gal A 活性低於正常範圍。

【0193】 如本文所用，術語「增強 α -Gal A 活性」或「增加 α -Gal A 活性」是指與特異於 α -Gal A 的藥用伴護蛋白不接觸的細胞（較佳相同細胞類型或相同細胞，例如較早時間）中的量相比，在與 α -Gal A 特異性藥用伴護蛋白接觸的細胞中增加採用穩定構形的 α -Gal A 的量。該術語還涉及與 α -Gal A 特異性藥用伴護蛋白不接觸的細胞中的 α -Gal A 向溶酶體的運輸相比，在與該蛋白特異性藥用伴護蛋白接觸的細胞中增加 α -Gal A 向溶

酶體的運輸。這些術語是指野生型和突變型 α -Gal A。在一個實施例中，藉由測量已經用 PC 處理的細胞的裂解物中人造受質的水解來測量細胞中 α -Gal A 的量的增加。水解增加表明 α -Gal A 活性增加。

【0194】術語「 α -Gal A 活性」是指細胞中野生型 α -Gal A 的正常生理功能。例如， α -Gal A 活性包括 GL-3 的水解。

【0195】「應答者」是診斷患有或懷疑患有溶酶體貯積病，例如法布里病的個體，其細胞響應於與 PC 的接觸而相應地表現出充分增加的 α -Gal A 活性，和 / 或改善症狀或增強替代標誌物。用於法布里的替代標誌物增強的非限制性實例是溶酶體 -Gb₃ 和美國專利申請公開案第 US 2010/0113517 號中揭示的那些，其藉由引用整體併入本文。

【0196】US 2010/0113517 中揭示的法布里病替代標誌物改良的非限制性實例包括細胞（例如纖維母細胞）和組織中 α -Gal A 水準或活性的增加；減少 GL-3 積累；同型半胱胺酸和血管細胞黏附分子-1 (VCAM-1) 的血漿濃度降低；心肌細胞和瓣膜纖維細胞內 GL-3 積累減少；血漿溶酶體 -Gb₃ 的減少；心臟肥大（尤其是左心室）的減少，瓣膜功能不全的改善和心律失常；改善蛋白尿；降低諸如 CTH、乳糖基神經醯胺、神經醯胺等脂質的尿濃度和增加葡萄糖神經醯胺和鞘磷脂的尿濃度；在腎小球上皮細胞中沒有層狀包涵體（斑馬體）；腎功能的改善；減輕少

汗症；不存在血管角化瘤；並改善聽力異常，如高頻感音神經性聽力損失、進行性聽力損失、突發性耳聾或耳鳴。神經症狀的改良包括預防短暫性腦缺血發作(TIA)或中風；並改善神經性疼痛，表現為肢體麻木(四肢灼痛或刺痛)。可以針對法布里病評估的另一種類型的臨床標誌物是有害心血管現象的出現。常見的與法布里病有關的心臟相關體征和症狀包括左心室肥大，瓣膜病(特別是二尖瓣脫垂和/或反流)，早發冠心病，心絞痛，心肌梗塞，傳導異常，心律失常，充血性心力衰竭。

【0197】 如本文所用，片語「穩定腎功能」和類似術語尤其是指減少腎功能下降和/或恢復腎功能。由於未治療的法布里患者預期腎功能顯著降低，所以腎功能惡化率的改善和/或腎功能改善證明了本文所述的米加司他治療的益處。具體而言，在法布里患者中，無論腎功能的嚴重程度和是否ERT初治或經歷ERT，均可藉由與未經過本發明的療法治療的類似患者相比，改善腎功能或延緩腎功能惡化的速度而得以表現出腎功能的穩定，例如對於一個特定的患者群體，多達 $0.2 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ 。與非治療(無伴護蛋白或ERT治療)或ERT治療相比，本文揭示的治療方法的優點是用本發明治療的法布里患者在其腎功能方面表現出較少下降或沒有下降。例如，最初使用ERT治療可觀察到改善，但在治療的最初兩年或三年後，ERT治療患者的腎功能經歷急劇下降 - 與ERT治療前觀察到的下降程度相似。相反，本文所述的療法更有效地清除溶

酶體 GL-3，並且已顯示其在預期不會改善的患者(例如參見實例 5)，例如，在經歷 ERT 的患者中引起改善。預計使用本文描述的療法的臨床資料即使在治療後兩年後仍能持續改善患者結果。因此，在一些實施例中，用本文描述的療法治療的患者在治療後持續穩定腎功能兩年以上(例如藉由改善腎小球濾過率(GFR)或延遲患者中 GFR 的下降速率)。

【0198】 「腎損傷」是指 GFR 小於 $90 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ 的患者。用於計算來自血清肌酸酐的估計腎小球濾過率(eGFR)的兩個最常用方程式是慢性腎臟疾病流行病學協作(CKD-EPI)方程和腎臟疾病飲食調整(MDRD)，其分別被稱為 $e\text{GFR}_{\text{CKD-EPI}}$ 和 $e\text{GFR}_{\text{MDRD}}$ 。慢性腎病的嚴重程度分為六個階段：

- a. (階段 0) 正常腎功能 - GFR 高於 $90 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ ，無蛋白尿；
- b. (階段 1) - GFR 高於 $90 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ ，有腎損傷的證據；
- c. (階段 2)(輕度) - GFR 為 60 至 $89 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ ，有腎臟損傷證據；
- d. (階段 3)(中等) - GFR 為 30 - $59 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ ；
- e. (階段 4)(嚴重) - GFR 為 15 至 $29 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ ；
- f. (階段 5) 腎功能衰竭 - GFR 小於 $15 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ 。

【0199】 「蛋白尿升高」是指超過正常範圍的尿蛋白水準。尿蛋白的正常範圍是每天0-150 mg，所以升高的蛋白尿是每天約150 mg的尿蛋白水準。

【0200】 如本文所用，片語「穩定血漿溶酶體 - G b₃」和類似術語是指減少血漿溶酶體 - G b₃和/或減少血漿溶酶體 - G b₃的增加。由於預期未治療的法布里病患者血漿溶酶體 - G b₃具有顯著增加，血漿溶酶體 - G b₃積累速率的改善和/或血漿溶酶體 - G b₃的改善證明了本文所述的米加司他治療的益處。

【0201】 達到一種或多種上述反應的劑量是「治療有效劑量」。

【0202】 片語「醫藥學上可接受的」是指生理上可耐受的分子實體和組合物，並且當投與人時通常不產生不利反應。在一些實施例中，如本文所用之術語「醫藥學上可接受」意謂由美國聯邦政府或州政府之管理機構核準或列於美國藥典或其他通常認可之藥典中或在動物中，且更特定言之在人類中使用。關於藥物載體的術語「載體」是指與化合物一起投與的稀釋劑、佐劑、賦形劑或媒劑。這種藥物載體可以是無菌液體，例如水和油。較佳使用水或水溶液鹽水溶液以及右旋糖和甘油水溶液作為載體，特別是用於注射溶液。合適的藥物載體在E.W.Martin，第18版的「Remington's Pharmaceutical Sciences」或其他版本中描述。

【0203】術語「酶替代療法」或「ERT」是指將非天然純化的酶引入缺乏這種酶的個體中。投與的蛋白質可以從天然來源獲得或藉由重組表達(如下文更詳細描述)。該術語還指在需要或獲益於投與純化酶(例如患有酶不足)的個體中引入純化的酶。引入的酶可以是活體外產生的純化的重組酶，或從分離的組織或流體(例如胎盤或動物乳)或從植物純化的蛋白質。

【0204】如本文所用，術語「分離的」是指所提及的材料從其正常發現的環境中移除。因此，分離的生物材料可以不含細胞組分，即發現或生產該材料的細胞的組分。在核酸分子的情況下，分離的核酸包括PCR產物，凝膠上的mRNA條帶，cDNA或限制性片段。在另一個實施例中，分離的核酸較佳從其可能存在的染色體中切除，並且更佳不再連接至非調控性、非編碼區域或由存在於染色體中的該分離核酸分子所包含的基因上游或下游的其他基因。在又一個實施例中，分離的核酸缺少一個或多個內含子。分離的核酸包括插入質粒，黏粒，人造染色體等中的序列。因此，在具體的實施例中，重組核酸是分離的核酸。分離的蛋白質可以與它在細胞中結合的其它蛋白質或核酸或兩者結合在一起，或者與細胞膜結合，如果它是膜結合蛋白質的話。分離的細胞器、細胞或組織從它在生物體中發現的解剖部位移除。分離的材料可能是，但不一定是純化的。

【0205】術語「大約」和「近似」通常意味著在給定測量的性質或精度的情況下測量的量的可接受的誤差程度。典型的示例性誤差度在給定值或數值範圍的20% (%)內，較佳在10%內，更佳在5%內。或者，並且特別是在生物系統中，術語「約」和「大約」可以表示在給定值的一個數量級內，較佳在10倍或5倍內，更佳在2倍內的值。此處給出的數值是近似的，除非另有說明，這意味著當未明確說明時可以推斷術語「約」或「近似」。

【0206】如本文所用，術語「游離鹼當量」或「FBE」是指米加司他或其鹽中存在的米加司他的量。換言之，術語「FBE」意指米加司他游離鹼的量，或米加司他鹽提供的等量米加司他游離鹼。例如，由於鹽酸鹽的重量，150 mg米加司他鹽酸鹽僅提供與米加司他123 mg游離鹼形式一樣多的米加司他。預計其他鹽具有不同的轉換因子，這取決於鹽的分子量。

【0207】術語「米加司他」涵蓋米加司他游離鹼或其醫藥學上可接受的鹽(例如米加司他鹽酸鹽)，除非有相反的明確說明。

法布里病

【0208】法布里病是一種罕見的，進行性和破壞性的X連鎖溶酶體貯積症。GLA基因中的突變導致醣神經鞘脂質代謝所需的溶酶體酶 α -Gal A缺乏。從生命早期開始， α -Gal A活性的降低導致醣神經鞘脂質(包括GL-3和血漿溶酶體-Gb₃)的積累，並導致法布里病的症狀和生

命限制性後遺症，包括疼痛，胃腸道症狀，腎衰竭，心肌病，腦血管事件和早期死亡。早期開始治療和終身治療為減緩疾病進展和延長預期壽命提供了機會。

【0209】法布里病包括一系列疾病的嚴重程度和發病年齡，儘管傳統上將其分為2種主要表型，「經典」和「遲發型」。經典表型主要歸諸於男性，該等男性具有檢測不到的直至低的 α -Gal A活性以及早期發生的腎、心臟和/或腦血管表現。遲發型表型主要歸諸於具有較高殘留 α -Gal A活性以及這些疾病表現的後期發作的男性。雜合子女性攜帶者通常表達遲發型表型，但取決於X染色體失活型式也可顯示經典表型。

【0210】已經確定了超過800種導致法布里病的GLA突變。大約60%是錯義突變，導致 α -Gal A酶發生單個胺基酸替換。錯義GLA突變通常導致 α -Gal A異常折疊和不穩定形式的產生，並且大部分與經典表型相關。內質網中的正常細胞品質控制機制阻止這些異常蛋白質向溶酶體的轉運並將其作為目標以便過早降解和消除。許多錯義突變體形式是米加司他的靶點，米加司他是 α -Gal A特異性藥用伴護蛋白。

【0211】法布里病的臨床表現跨越廣泛的嚴重程度，並與患者的殘餘 α -GAL水準大致相關。目前大部分接受治療的患者被稱為經典法布里病患者，其中大多數為男性。這些患者經歷多種器官疾病，包括腎臟，心臟和大腦，其疾病症狀首先出現在青春期的，並且通常在嚴重程度上進展

直到在四五十歲時死亡。最近的許多研究表明，有大量未確診的男性和女性患有一系列法布里病症狀，例如心臟或腎功能受損和中風，該等症狀通常首先出現在成年期。被稱為遲發型法布里病的這種類型的法布里病的患者，與傳統的法布里病患者相比，傾向於具有更高的殘餘 α -GAL 水準。患有遲發法布里病的個體通常在成年期首先經歷疾病症狀，並且經常具有集中於單個器官的疾病症狀，例如左心室增大或進行性腎衰竭。此外，遲發法布里病也可能以不明原因的中風形式存在。

【0212】 法布里病患者有進行性腎損傷，未治療的患者在五十歲時表現出終末期腎損傷。 α -Gal A 活性的缺乏導致 GL-3 和相關醣神經鞘脂質在許多細胞類型(包括腎臟細胞)中的積累。GL-3 在足細胞、上皮細胞以及遠端小管和 Henle 環的小管細胞中積累。腎功能損傷可表現為蛋白尿和腎小球濾過率降低。

【0213】 由於法布里病可導致腎功能進行性惡化，因此重要的是瞭解腎損傷患者中潛在治療藥物的藥代動力學(PK)，特別是對於主要藉由腎臟排泄清除的治療藥物更是如此。腎功能損傷可能導致治療劑積累到變成有毒的水準。

【0214】 由於法布里病很少見，涉及多個器官，起病年齡範圍廣，而且是異質性的，因此正確的診斷是一個挑戰。健康照護專業人員的意識很低，誤診經常發生。法布里病的診斷最常是基於在患者出現症狀時的血漿或外周

血白血球 (WBC) 中的 α -Gal A 活性降低，再加上突變分析來證實。在女性中，診斷更具挑戰性，因為攜帶者女性的酶促鑒定由於在攜帶者的一些細胞中隨機 X 染色體失活而不太可靠。例如，一些專性攜帶者 (患典型疾病男性的女兒) 具有從正常活性到非常低活性的 α -Gal A 酶活性。由於攜帶者在白血球中可具有正常的 α -Gal A 酶活性，因此只有藉由基因檢測鑒定 α -Gal A 突變才能提供精確的攜帶者鑒定和 / 或診斷。

【0215】 被認為適用於米加司他的 α -半乳糖苷酶 A 的突變形式被定義為顯示出 ≥ 1.20 倍的相對增加 (+10 μ M 米加司他) 和 $\geq 3.0\%$ 野生型的絕對增加 (+10 μ M 米加司他)，根據優良實驗室操作 (GLP) 驗證的活體外測定 (GLP HEK 或米加司他順應性測定)，在 HEK-293 細胞中表達突變形式的 α -半乳糖苷酶 A (稱為「HEK 測定」)。這樣的突變在本文中也被稱為「HEK 測定順應性」突變。

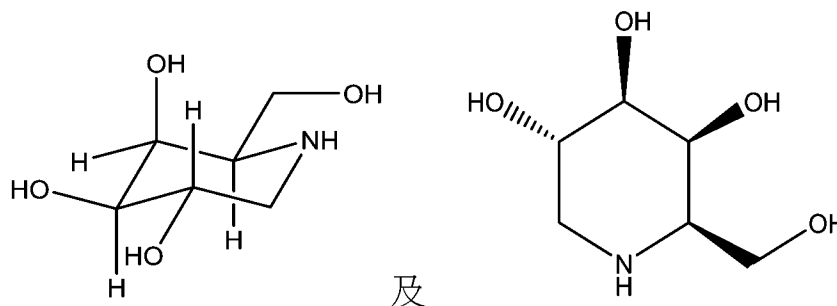
【0216】 已經提供了先前的篩選方法，其在開始治療之前評估酶增強。例如，使用 HEK-293 細胞的測定法已用於臨床試驗以預測給定的突變是否對藥用伴護蛋白 (例如米加司他) 治療有反應。在該測定中，建置 cDNA 構建體。相應的 α -Gal A 突變體形式在 HEK-293 細胞中瞬時表達。然後將細胞 \pm 米加司他 (17 nM 至 1 mM) 孵育 4 至 5 天。之後，使用合成螢光受質 (4-MU- α -Gal) 或藉由蛋白質印跡在細胞裂解物中測量 α -Gal A 水準。這已經用

於已知的致病性錯義或小框內插入/缺失突變。先前已經使用這些方法鑒定為對PC(例如米加司他)作出響應的突變列於美國專利第8,592,362號中，其全部內容藉由引用併入本文。

藥用伴護蛋白

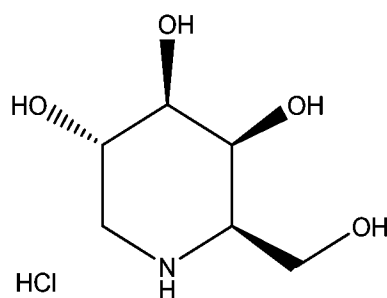
【0217】 與LSD相關的酶的小分子抑制劑的結合可以增加突變酶和相應的野生型酶的穩定性(參見美國專利第6,274,597; 6,583,158; 6,589,964; 6,599,919; 6,916,829和7,141,582號，所有這些專利藉由引用併入本文)。具體而言，作為幾種靶溶酶體酶的特異性競爭性抑制劑的葡萄糖和半乳糖的小分子衍生物的給藥有效地增加了活體外細胞中酶的穩定性，從而增加了酶向溶酶體的運輸。因此，藉由增加溶酶體中酶的量，預計酶受質的水解會增加。支持該策略的原始理論如下：由於突變型酶蛋白在ER中是不穩定的(Ishii等，*Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1996; 220: 812-815)，酶蛋白在正常運輸途徑(ER→高爾基體→內體→溶酶體)中延遲並過早降解。因此，結合並增加突變酶穩定性的化合物可以充當酶的「伴護蛋白」並增加可以離開ER並移動到溶酶體的量。此外，由於一些野生型蛋白質的折疊和運輸不完全，並且在一些情況下一些野生型蛋白質在達到其最終細胞位置之前降解達70%，伴護蛋白可用於穩定野生型酶，並且增加可以離開ER並被運輸到溶酶體的酶的量。

【0218】 在一個或多個實施例中，藥用伴護蛋白包含米加司他或其鹽。化合物米加司他，也稱為1-脫氧半乳糖野尻黴素(1-DGJ)或(2R,3S,4R,5S)-2-(羥甲基)哌啶-3,4,5-三醇是具有以下化學式的化合物：



米加司他游離鹼

【0219】 如本文所討論的，米加司他的醫藥學上可接受的鹽也可用於本發明。當使用米加司他鹽時，將調整鹽的劑量，使得患者接受的米加司他的劑量等於使用米加司他游離鹼時所接受的量。米加司他的醫藥學上可接受的鹽的一個實例是米加司他鹽酸鹽：



米加司他鹽酸鹽

【0220】 米加司他是一種低分子量亞胺基糖，是GL-3末端半乳糖的類似物。活體外和活體內藥理研究表明，米加司他作為藥用伴護蛋白，以高親和力選擇性和可逆地結合野生型 α -Gal A和 α -Gal A的特定突變形式的活性位點，該等突變形式的基因型被稱為HEK測定順應性突

變。米加司他結合穩定了內質網中 α -Gal A 的這些突變形式，從而促進它們向溶酶體的適當運輸，其中米加司他的解離允許 α -Gal A 降低 GL-3 和其他受質的水準。大約 30-50% 的法布里病患者具有 HEK 測定順應性突變；其中大部分與該疾病的經典表型相關。HEK 測定順應性突變的列表至少包括下表 1 中列出的那些突變。在一個或多個實施例中，如果在相同染色體（男性和女性）上存在雙重突變，則如果雙重突變存在於表 1 中的一個條目中（例如 D55V/Q57L），則認為該患者是 HEK 測定順應性的。在一些實施例中，如果雙重突變存在於不同的染色體上（僅在女性中），則如果表 1 中存在單個突變中的任一個，則認為患者是 HEK 測定順應性的。除了下面的表 1 之外，HEK 測定可順應性突變也可以在批准使用 GALAFOLD™ 的各個國家的 GALAFOLD™ 產品特性的概述和 / 或處方資訊中或在網站 www.galafoldamenabilitytable.com 上找到，其全部內容藉由引用併入本文。

表 1

核苷酸變化	核苷酸變化	蛋白質序列變化
c.7C>G	c.C7G	L3V
c.8T>C	c.T8C	L3P
c.[11G>T; 620A>C]	c.G11T/A620C	R4M/Y207S
c.37G>A	c.G37A	A13T
c.37G>C	c.G37C	A13P
c.43G>A	c.G43A	A15T
c.44C>G	c.C44G	A15G
c.53T>G	c.T53G	F18C
c.58G>C	c.G58C	A20P
c.59C>A	c.C59A	A20D

核苷酸變化	核苷酸變化	蛋白質序列變化
c.70T>C 或 c.70T>A	c.T70C 或 c.T70A	W24R
c.70T>G	c.T70G	W24G
c.72G>C 或 c.72G>T	c.G72C 或 c.G72T	W24C
c.95T>C	c.T95C	L32P
c.97G>T	c.G97T	D33Y
c.98A>G	c.A98G	D33G
c.100A>G	c.A100G	N34D
c.101A>C	c.A101C	N34T
c.101A>G	c.A101G	N34S
c.102T>G 或 c.102T>A	c.T102G 或 c.T102A	N34K
c.103G>C 或 c.103G>A	c.G103C 或 c.G103A	G35R
c.104G>A	c.G104A	G35E
c.104G>T	c.G104T	G35V
c.107T>C	c.T107C	L36S
c.107T>G	c.T107G	L36W
c.108G>C 或 c.108G>T	c.G108C 或 c.G108T	L36F
c.109G>A	c.G109A	A37T
c.110C>T	c.C110T	A37V
c.122C>T	c.C122T	T41I
c.124A>C 或 c.124A>T	c.A124C 或 c.A124T	M42L
c.124A>G	c.A124G	M42V
c.125T>A	c.T125A	M42K
c.125T>C	c.T125C	M42T
c.125T>G	c.T125G	M42R
c.126G>A 或 c.126G>C 或 c.126G>T	c.G126A 或 c.G126C 或 c.G126T	M42I
c.137A>C	c.A137C	H46P
c.142G>C	c.G142C	E48Q
c.152T>A	c.T152A	M51K
c.153G>A 或 c.153G>T 或 c.153G>C	c.G153A 或 c.G153T 或 c.G153C	M51I
c.157A>G	c.A157G	N53D
c.[157A>C; 158A>T]	c.A157C/A158T	N53L
c.160C>T	c.C160T	L54F
c.161T>C	c.T161C	L54P
c.164A>G	c.A164G	D55G
c.164A>T	c.A164T	D55V
c.[164A>T; 170A>T]	c.A164T/A170T	D55V/Q57L
c.167G>T	c.G167T	C56F
c.167G>A	c.G167A	C56Y
c.170A>T	c.A170T	Q57L
c.175G>A	c.G175A	E59K
c.178C>A	c.C178A	P60T
c.178C>T	c.C178T	P60S
c.179C>T	c.C179T	P60L
c.196G>A	c.G196A	E66K
c.197A>G	c.A197G	E66G

核苷酸變化	核苷酸變化	蛋白質序列變化
c.207C>A 或 c.207C>G	c.C207A 或 c.C207G	F69L
c.214A>G	c.A214G	M72V
c.216G>A 或 c.216G>T 或 c.216G>C	c.G216A 或 c.G216T 或 c.G216C	M72I
c.218C>T	c.C218T	A73V
c.227T>C	c.T227C	M76T
c.239G>A	c.G239A	G80D
c.247G>A	c.G247A	D83N
c.253G>A	c.G253A	G85S
c.254G>A	c.G254A	G85D
c.[253G>A; 254G>A]	c.G253A/G254A	G85N
c.[253G>A; 254G>T; 255T>G]	c.G253A/G254T/T255G	G85M
c.261G>C 或 c.261G>T	c.G261C 或 c.G261T	E87D
c.265C>T	c.C265T	L89F
c.272T>C	c.T272C	I91T
c.288G>A 或 c.288G>T 或 c.288G>C	c.G288A 或 c.G288T 或 c.G288C	M96I
c.289G>C	c.G289C	A97P
c.290C>T	c.C290T	A97V
c.305C>T	c.C305T	S102L
c.311G>T	c.G311T	G104V
c.316C>T	c.C316T	L106F
c.322G>A	c.G322A	A108T
c.326A>G	c.A326G	D109G
c.334C>G	c.C334G	R112G
c.335G>A	c.G335A	R112H
c.337T>A	c.T337A	F113I
c.337T>C 或 c.339T>A 或 c.339T>G	c.T337C 或 c.T339A 或 c.T339G	F113L
c.352C>T	c.C352T	R118C
c.361G>A	c.G361A	A121T
c.368A>G	c.A368G	Y123C
c.373C>T	c.C373T	H125Y
c.374A>T	c.A374T	H125L
c.376A>G	c.A376G	S126G
c.383G>A	c.G383A	G128E
c.399T>G	c.T399G	I133M
c.404C>T	c.C404T	A135V
c.408T>A 或 c.408T>G	c.T408A 或 c.T408G	D136E
c.416A>G	c.A416G	N139S
c.419A>C	c.A419C	K140T
c.427G>A	c.G427A	A143T
c.431G>A	c.G431A	G144D
c.431G>T	c.G431T	G144V
c.434T>C	c.T434C	F145S
c.436C>T	c.C436T	P146S
c.437C>G	c.C437G	P146R
c.454T>C	c.T454C	Y152H

核苷酸變化	核苷酸變化	蛋白質序列變化
c.455A>G	c.A455G	Y152C
c.466G>A	c.G466A	A156T
c.467C>T	c.C467T	A156V
c.471G>C 或 c.471G>T	c.G471C 或 c.G471T	Q157H
c.484T>G	c.T484G	W162G
c.493G>C	c.G493C	D165H
c.494A>G	c.A494G	D165G
c.[496C>G; 497T>G]	c.C496G/T497G	L166G
c.496C>G	c.C496G	L166V
c.496_497delinsTC	c.496_497delinsTC	L166S
c.499C>G	c.C499G	L167V
c.506T>C	c.T506C	F169S
c.511G>A	c.G511A	G171S
c.520T>C	c.T520C	C174R
c.520T>G	c.T520G	C174G
c.525C>G 或 c.525C>A	c.C525G 或 c.C525A	D175E
c.539T>G	c.T539G	L180W
c.540G>C	c.G540C	L180F
c.548G>C	c.G548C	G183A
c.548G>A	c.G548A	G183D
c.550T>A	c.T550A	Y184N
c.551A>G	c.A551G	Y184C
c.553A>G	c.A553G	K185E
c.559A>G	c.A559G	M187V
c.559_564dup	c.559_564dup	p.M187_S188dup
c.560T>C	c.T560C	M187T
c.561G>T 或 c.561G>A 或 c.561G>C	c.G561T 或 c.G561A 或 c.G561C	M187I
c.572T>A	c.T572A	L191Q
c.581C>T	c.C581T	T194I
c.584G>T	c.G584T	G195V
c.586A>G	c.A586G	R196G
c.593T>C	c.T593C	I198T
c.595G>A	c.G595A	V199M
c.596T>C	c.T596C	V199A
c.596T>G	c.T596G	V199G
c.599A>G	c.A599G	Y200C
c.602C>T	c.C602T	S201F
c.602C>A	c.C602A	S201Y
c.608A>T	c.A608T	E203V
c.609G>C 或 c.609G>T	c.G609C 或 c.G609T	E203D
c.613C>A	c.C613A	P205T
c.613C>T	c.C613T	P205S
c.614C>T	c.C614T	P205L
c.619T>C	c.T619C	Y207H
c.620A>C	c.A620C	Y207S
c.623T>G	c.T623G	M208R
c.628C>T	c.C628T	P210S

核苷酸變化	核苷酸變化	蛋白質序列變化
c.629C>T	c.C629T	P210L
c.638A>G	c.A638G	K213R
c.638A>T	c.A638T	K213M
c.640C>T	c.C640T	P214S
c.641C>T	c.C641T	P214L
c.643A>G	c.A643G	N215D
c.644A>G	c.A644G	N215S
c.644A>T	c.A644T	N215I
c.[644A>G; 937G>T]	c.A644G/G937T	N215S/D313Y
c.646T>G	c.T646G	Y216D
c.647A>G	c.A647G	Y216C
c.655A>C	c.A655C	I219L
c.656T>A	c.T656A	I219N
c.656T>C	c.T656C	I219T
c.659G>A	c.G659A	R220Q
c.659G>C	c.G659C	R220P
c.662A>C	c.A662C	Q221P
c.671A>C	c.A671C	N224T
c.671A>G	c.A671G	N224S
c.673C>G	c.C673G	H225D
c.683A>G	c.A683G	N228S
c.687T>A 或 c.687T>G	c.T687A 或 c.T687G	F229L
c.695T>C	c.T695C	I232T
c.713G>A	c.G713A	S238N
c.716T>C	c.T716C	I239T
c.720G>C 或 c.720G>T	c.G720C 或 c.G720T	K240N
c.724A>G	c.A724G	I242V
c.724A>T	c.A724T	I242F
c.725T>A	c.T725A	I242N
c.725T>C	c.T725C	I242T
c.728T>G	c.T728G	L243W
c.729G>C 或 c.729G>T	c.G729C 或 c.G729T	L243F
c.730G>A	c.G730A	D244N
c.730G>C	c.G730C	D244H
c.733T>G	c.T733G	W245G
c.740C>G	c.C740G	S247C
c.747C>G 或 c.747C>A	c.C747G 或 c.C747A	N249K
c.749A>C	c.A749C	Q250P
c.749A>G	c.A749G	Q250R
c.750G>C	c.G750C	Q250H
c.758T>C	c.T758C	I253T
c.758T>G	c.T758G	I253S
c.760-762delGTT	c.760_762delGTT	p.V254del
c.769G>C	c.G769C	A257P
c.770C>G	c.C770G	A257G
c.772G>C 或 c.772G>A	c.G772C 或 c.G772A	G258R
c.773G>T	c.G773T	G258V
c.776C>G	c.C776G	P259R

核苷酸變化	核苷酸變化	蛋白質序列變化
c.776C>T	c.C776T	P259L
c.779G>A	c.G779A	G260E
c.779G>C	c.G779C	G260A
c.781G>A	c.G781A	G261S
c.781G>C	c.G781C	G261R
c.781G>T	c.G781T	G261C
c.788A>G	c.A788G	N263S
c.790G>T	c.G790T	D264Y
c.794C>T	c.C794T	P265L
c.800T>C	c.T800C	M267T
c.805G>A	c.G805A	V269M
c.806T>C	c.T806C	V269A
c.809T>C	c.T809C	I270T
c.810T>G	c.T810G	I270M
c.811G>A	c.G811A	G271S
c.[811G>A; 937G>T]	c.G811A/G937T	G271S/D313Y
c.812G>A	c.G812A	G271D
c.823C>G	c.C823G	L275V
c.827G>A	c.G827A	S276N
c.829T>G	c.T829G	W277G
c.831G>T 或 c.831G>C	c.G831T 或 c.G831C	W277C
c.832A>T	c.A832T	N278Y
c.835C>G	c.C835G	Q279E
c.838C>A	c.C838A	Q280K
c.840A>T 或 c.840A>C	c.A840T 或 c.A840C	Q280H
c.844A>G	c.A844G	T282A
c.845C>T	c.C845T	T282I
c.850A>G	c.A850G	M284V
c.851T>C	c.T851C	M284T
c.860G>T	c.G860T	W287L
c.862G>C	c.G862C	A288P
c.866T>G	c.T866G	I289S
c.868A>C 或 c.868A>T	c.A868C 或 c.A868T	M290L
c.869T>C	c.T869C	M290T
c.870G>A 或 c.870G>C 或 c.870G>T	c.G870A 或 c.G870C 或 c.G870T	M290I
c.871G>A	c.G871A	A291T
c.877C>A	c.C877A	P293T
c.881T>C	c.T881C	L294S
c.884T>G	c.T884G	F295C
c.886A>G	c.A886G	M296V
c.886A>T 或 c.886A>C	c.A886T 或 c.A886C	M296L
c.887T>C	c.T887C	M296T
c.888G>A 或 c.888G>T 或 c.888G>C	c.G888A 或 c.G888T 或 c.G888C	M296I
c.893A>G	c.A893G	N298S
c.897C>G 或 c.897C>A	c.C897G 或 c.C897A	D299E
c.898C>T	c.C898T	L300F

核苷酸變化	核苷酸變化	蛋白質序列變化
c.899T>C	c.T899C	L300P
c.901C>G	c.C901G	R301G
c.902G>C	c.G902C	R301P
c.902G>A	c.G902A	R301Q
c.902G>T	c.G902T	R301L
c.907A>T	c.A907T	I303F
c.908T>A	c.T908A	I303N
c.911G>A	c.G911A	S304N
c.911G>C	c.G911C	S304T
c.919G>A	c.G919A	A307T
c.922A>G	c.A922G	K308E
c.924A>T 或 c.924A>C	c.A924T 或 c.A924C	K308N
c.925G>C	c.G925C	A309P
c.926C>T	c.C926T	A309V
c.928C>T	c.C928T	L310F
c.931C>G	c.C931G	L311V
c.935A>G	c.A935G	Q312R
c.936G>T 或 c.936G>C	c.G936T 或 c.G936C	Q312H
c.937G>T	c.G937T	D313Y
c.[937G>T; 1232G>A]	c.G937T/G1232A	D313Y/G411D
c.938A>G	c.A938G	D313G
c.946G>A	c.G946A	V316I
c.947T>G	c.T947G	V316G
c.950T>C	c.T950C	I317T
c.955A>T	c.A955T	I319F
c.956T>C	c.T956C	I319T
c.959A>T	c.A959T	N320I
c.962A>G	c.A962G	Q321R
c.962A>T	c.A962T	Q321L
c.963G>C 或 c.963G>T	c.G963C 或 c.G963T	Q321H
c.964G>A	c.G964A	D322N
c.964G>C	c.G964C	D322H
c.966C>A 或 c.966C>G	c.C966A 或 c.C966G	D322E
c.968C>G	c.C968G	P323R
c.973G>A	c.G973A	G325S
c.973G>C	c.G973C	G325R
c.978G>C 或 c.978G>T	c.G978C 或 c.G978T	K326N
c.979C>G	c.C979G	Q327E
c.980A>T	c.A980T	Q327L
c.983G>C	c.G983C	G328A
c.989A>G	c.A989G	Q330R
c.1001G>A	c.G1001A	G334E
c.1010T>C	c.T1010C	F337S
c.1012G>A	c.G1012A	E338K
c.1016T>A	c.T1016A	V339E
c.1027C>A	c.C1027A	P343T
c.1028C>T	c.C1028T	P343L
c.1033T>C	c.T1033C	S345P

核苷酸變化	核苷酸變化	蛋白質序列變化
c.1046G>C	c.G1046C	W349S
c.1055C>G	c.C1055G	A352G
c.1055C>T	c.C1055T	A352V
c.1061T>A	c.T1061A	I354K
c.1066C>G	c.C1066G	R356G
c.1066C>T	c.C1066T	R356W
c.1067G>A	c.G1067A	R356Q
c.1067G>C	c.G1067C	R356P
c.1072G>C	c.G1072C	E358Q
c.1073A>C	c.A1073C	E358A
c.1073A>G	c.A1073G	E358G
c.1074G>T 或 c.1074G>C	c.G1074T 或 c.G1074C	E358D
c.1076T>C	c.T1076C	I359T
c.1078G>A	c.G1078A	G360S
c.1078G>T	c.G1078T	G360C
c.1079G>A	c.G1079A	G360D
c.1082G>A	c.G1082A	G361E
c.1082G>C	c.G1082C	G361A
c.1084C>A	c.C1084A	P362T
c.1085C>T	c.C1085T	P362L
c.1087C>T	c.C1087T	R363C
c.1088G>A	c.G1088A	R363H
c.1102G>A	c.G1102A	A368T
c.1117G>A	c.G1117A	G373S
c.1124G>A	c.G1124A	G375E
c.1153A>G	c.A1153G	T385A
c.1168G>A	c.G1168A	V390M
c.1172A>C	c.A1172C	K391T
c.1184G>A	c.G1184A	G395E
c.1184G>C	c.G1184C	G395A
c.1192G>A	c.G1192A	E398K
c.1202_1203insGACTTC	c.1202_1203insGACTTC	p.T400_S401dup
c.1208T>C	c.T1208C	L403S
c.1225C>G	c.C1225G	P409A
c.1225C>T	c.C1225T	P409S
c.1225C>A	c.C1225A	P409T
c.1228A>G	c.A1228G	T410A
c.1229C>T	c.C1229T	T410I
c.1232G>A	c.G1232A	G411D
c.1235C>A	c.C1235A	T412N
c.1253A>G	c.A1253G	E418G
c.1261A>G	c.A1261G	M421V

法布里病患者的腎功能

【0221】 腎功能的逐漸下降是法布里病的主要併發症。例如，與經典法布里表型相關的患者表現出可能最終需要透析或腎移植的進行性腎損傷。

【0222】 此項技術中常用的評估腎功能的方法是GFR。通常，GFR是每單位時間從腎小球毛細血管過濾到鮑曼囊中的流體體積。臨床上，GFR的估計基於血清中肌酸酐的清除。可以藉由收集尿液，以確定在給定的時間間隔內從血液中去除的肌酸酐的量來估計GFR。年齡，體型和性別也可能被考慮在內。GFR數值越低，腎臟損傷越嚴重。

【0223】 一些研究表明，未經治療的法布里病患者經歷平均每年7.0至18.9 mL/min/1.73 m²的GFR下降，而接受ERT的患者可能經歷平均每年2.0至2.7 mL/min/1.73 m²的GFR下降，雖然更顯著的蛋白尿或更嚴重的慢性腎病患者可能會出現更快的下降。

【0224】 使用同位素稀釋質譜(IDMS)可追蹤方程從血清肌酸酐計算估計的GFR(eGFR)。從血清肌酸酐估算腎小球濾過率(GFR)的兩個最常用方程式是慢性腎臟疾病流行病學協作(CKD-EPI)方程和腎臟疾病飲食調整(MDRD)研究方程。MDRD研究和CKD-EPI方程都包括年齡、性別和種族的變數，儘管血清肌酸酐濃度似乎落在正常參考區間內或略高於正常參考區間，但該等變數可能允許供方觀察到CKD存在。

【0225】CKD-EPI方程使用雙斜率「樣條曲線」來模擬GFR與血清肌酸酐、年齡、性別和種族之間的關係。

CKD-EPI方程用單一方程表示：

$$GFR = 141 \times \min(S_{cr} / \kappa, 1)^\alpha \times \max(S_{cr} / \kappa, 1)^{-1.209} \times 0.993^{\text{年齡}} \times 1.018 [\text{若為女性}] \times 1.159 [\text{若為黑人}]$$

其中：

S_{cr} 是以mg/dL為單位的血清肌酸酐，

κ 對於女性為0.7，對於男性為0.9，

α 對於女性為-0.329，對於男性為-0.411，

\min 表示 S_{cr} / κ 的最小值或1，並且

\max 表示 S_{cr} / κ 的最大值或1。

【0226】以下是IDMS可追蹤的MDRD研究方程（對於根據IDMS參考方法校準的肌酸酐方法）：

$$GFR (mL/min/1.73 m^2) = 175 \times (S_{cr})^{-1.154} \times (\text{年齡})^{-0.203} \times (0.742, \text{若為女性}) \times (1.212, \text{若為非洲裔美國人})$$

【0227】該公式不需要體重或身高變數，因為結果報告標準化為 $1.73 m^2$ 的體表面積，這是可接受的平均成人表面積。該方程已經在年齡在18-70歲之間的腎功能受損（ $eGFR < 60 mL/min/1.73 m^2$ ）的高加索人和非洲裔美國人群中廣泛驗證，並且對於所有常見腎病病因的患者表現出良好的性能。

【0228】 估計肌酸酐清除率 (eCCr) 的一種方法是使用 Cockcroft-Gault 方程，該方程反過來以 mL/min 估算 GFR：

肌酸酐清除率 (mL/min) = [(140 - 年齡) x 質量 (Kg)*] ÷ 72 x 血清肌酸酐 (mg/dL)

[* 如果是女性，則乘以 0.85]

【0229】 Cockcroft-Gault 方程是美國食品和藥物管理局建議用於腎損傷研究的方程式。藉由 Cockcroft-Gault 公式計算的肌酸酐清除率通常對於 1.73 m² 的體表面積來標準化。因此，該方程可以表示為估算的 eGFR，單位為 mL/min/1.73 m²。根據體表面積調整後的正常 GFR 範圍，在男性中為 100-130 mL/min/1.73 m²，在年齡小於 40 歲的女性中為 90-120 mL/min/1.73 m²。

【0230】 慢性腎臟疾病的嚴重程度分為六個階段(也見表 2)：(階段 0) 正常腎功能 - GFR 高於 90 mL/min/1.73 m² 且無蛋白尿；(階段 1) - GFR 高於 90 mL/min/1.73 m²，有腎損傷的證據；(階段 2)(輕度) - GFR 為 60 至 89 mL/min/1.73 m²，有腎臟損傷證據；(階段 3)(中等) - GFR 為 30-59 mL/min/1.73 m²；(階段 4)(嚴重) - GFR 為 15 至 29 mL/min/1.73 m²；(階段 5) 腎功能衰竭 - GFR 小於 15 mL/min/1.73 m²。下表 2 顯示了具有相應 GFR 水準的各種腎病階段。

表 2

慢性腎病階段	GFR 水準 (mL/min/1.73 m ²)
階段 1(正常)	≥ 90
第 2 階段(輕度)	60 – 89
第 3 階段(中度)	30 – 59
階段 4(嚴重)	15 – 29
第 5 階段(腎衰竭)	< 15

給藥、調配及投與

【0231】 本文所述的一種或多種給藥方案特別適用於具有一定程度腎損傷的法布里患者。幾項研究調查了法布里患者每隔一天(QOD)使用150 mg米加司他鹽酸鹽。一項研究是一項在67名ERT初治患者中的24個月的試驗，包括6個月雙盲安慰劑對照期。另一項研究是對57名經歷ERT的患者進行的活性對照的18個月試驗，該試驗具有為期12個月的開放標籤延長(OLE)。兩項研究均包括估計腎小球濾過率(eGFR) ≥ 30 mL/min/1.73 m²的患者。因此，這兩項研究都包括腎功能正常的法布里患者以及輕度和中度腎損傷患者，但這兩項研究均未納入嚴重腎損傷患者。

【0232】 對法布里患者的米加司他治療的研究確定，每隔一天150 mg米加司他鹽酸鹽減緩疾病進展，如替代標誌物所示。

【0233】 因此，在一個或多個實施例中，以每隔一天一次的頻率(也稱為「QOD」)向法布利患者投與米加司他或其鹽。在各種實施例中，本文所述的劑量涉及米加司他鹽酸鹽或等效劑量的米加司他或其鹽酸鹽以外的鹽。在一些實施例中，這些劑量涉及米加司他的游離鹼。在替代實

施例中，這些劑量涉及米加司他的鹽。在進一步的實施例中，米加司他的鹽是米加司他鹽酸鹽。米加司他或米加司他鹽的投與在本文中被稱為「米加司他治療」。

【0234】 米加司他或其鹽的有效量可以在約100 mg FBE至約150 mg FBE的範圍內。示例性的劑量包括約100 mg FBE，約105 mg FBE，約110 mg FBE，約115 mg FBE，約120 mg FBE，約123 mg FBE，約125 mg FBE，約130 mg FBE，約135 mg FBE，約140 mg FBE，約145 mg FBE或約150 mg FBE。

【0235】 再次指出，150 mg鹽酸米加司他相當於123 mg游離鹼形式的米加司他。因此，在一個或多個實施例中，劑量為150 mg鹽酸米加司他或等效劑量的米加司他或其鹽酸鹽以外的鹽，以每隔一天一次的頻率給藥。如上所述，該劑量被稱為123 mg FBE米加司他。在進一步的實施例中，劑量是每隔一天一次給予150 mg米加司他鹽酸鹽。在其他實施例中，劑量是每隔一天一次給予123 mg米加司他游離鹼。

【0236】 在各種實施例中，有效量為約122 mg，約128 mg，約134 mg，約140 mg，約146 mg，約150 mg，約152 mg，約159 mg，約165 mg，約171 mg，約177 mg或約183 mg米加司他鹽酸鹽。

【0237】 因此，在各種實施例中，米加司他治療包括以每隔一天一次的頻率給藥123 mg FBE，例如每隔一天150 mg米加司他鹽酸鹽。

【0238】 米加司他或其鹽的投與可以持續一段時間。在一個或多個實施例中，米加司他或其鹽給藥持續至少28天，諸如至少30、60或90天或至少3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、16、20、24、30或36個月或至少1、2、3、4或5年。在不同的實施例中，米加司他治療是至少6個月的長期米加司他治療，例如至少6、7、8、9、10、11、12、16、20、24、30或36個月或至少1年、2年、3年、4年或5年。

【0239】 根據本發明的米加司他或其鹽的投與可以處於適合於任何投與途徑的製劑中，但較佳以口服劑型如錠劑、膠囊或溶液投與。作為一個實例，患者口服給予膠囊，該等膠囊各自含有150 mg米加司他鹽酸鹽或等效劑量的米加司他或其鹽酸鹽以外的鹽。

【0240】 在一些實施例中，PC(例如米加司他或其鹽)經口投與。在一個或多個實施例中，PC(例如米加司他或其鹽)藉由注射投與。PC可以伴隨醫藥學上可接受的載體，這可能取決於投與方法。

【0241】 在一個或多個實施例中，PC(例如米加司他或其鹽)作為單一療法投與，並且可以為適合於任何投與途徑的形式，包括例如口服錠劑或膠囊或液體形式，或無菌注射用水溶液。在其他實施例中，將PC提供於乾燥凍乾粉中，以在重構期間或在重構後立即添加至替代酶製劑中以防止在投與前的活體外的酶聚集。

【0242】 當PC(例如米加司他或其鹽)配製用於口服給藥時，錠劑或膠囊劑可以藉由常規方式用醫藥學上可接受的賦形劑來製備，如黏合劑(例如，預膠化玉米澱粉，聚乙烯吡咯啉酮或羥丙基甲基纖維素)；填充劑(例如乳糖，微晶纖維素或磷酸氫鈣)；潤滑劑(例如硬脂酸鎂，滑石或二氧化矽)；崩解劑(例如馬鈴薯澱粉或羥基乙酸澱粉鈉)；或潤濕劑(例如十二烷基硫酸鈉)。錠劑可以用此項技術中公知的方法包衣。用於口服給藥的液體製劑可以採取例如溶液劑、糖漿劑或混懸劑的形式，或者它們可以作為幹產品形式提供以便在使用前用水或另一種適合的媒劑來構成。這種液體製劑可以藉由常規方法用醫藥學上可接受的添加劑來製備，如懸浮劑(例如山梨糖醇糖漿，纖維素衍生物或氫化食用脂肪)；乳化劑(例如卵磷脂或阿拉伯膠)；非水性媒劑(例如杏仁油，油性酯，乙醇或分餾植物油)；和防腐劑(例如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯或山梨酸)。如果合適，製劑還可以含有緩衝鹽，調味劑，著色劑和甜味劑。用於口服給藥的製劑可適當地配製以控制活性伴護蛋白化合物的釋放。

【0243】 適用於非經腸/可注射用途的PC(例如米加司他或其鹽)的藥物製劑通常包括無菌水溶液(當具有水溶性時)或分散液和用於臨時製備無菌注射溶液或分散液的無菌粉末。在所有情況下，該形式必須為無菌的且流動性應達到易於注射之程度。其應在製造及儲存條件下穩定且必須免受諸如細菌及真菌之微生物的污染作用而保藏。載

劑可為含有例如水、乙醇、多元醇(例如, 甘油、丙二醇及聚乙二醇及其類似物)、其合適混合物及植物油之溶劑或分散介質。適當流動性可例如藉由使用諸如卵磷脂之包衣、藉由在分散狀況下維持所需粒子大小、且藉由使用界面活性劑來維持。防止微生物作用可利用各種抗細菌及抗真菌劑(例如對羥基苯甲酸、氯丁醇、苯酚、山梨酸及其類似物)來確保。在許多情況下, 將較佳的是包括等張劑, 例如糖或氯化鈉。延長可注射組合物之吸收可藉由在組合物中使用延遲吸收之試劑, 例如單硬脂酸鋁或明膠來達成。

【0244】 無菌可注射溶液藉由如下方式製備: 將純化的酶(如果有的話)和PC(例如米加司他或其鹽)以需要的量與上面列舉的各種其他成分(如需要)一起摻入合適的溶劑中, 接著過濾或最終消毒。一般而言, 分散液藉由將各種已殺菌之活性成分併入含有基礎分散介質及來自如上列舉之成分的所需要之其他成分的無菌媒劑來製備。在用於製備無菌注射溶液之無菌粉末的情況下, 較佳製備方法為真空乾燥及冷凍乾燥技術, 其產生活性成分加來自先前無菌過濾之溶液的任何額外所要成分的粉末。

【0245】 該製劑可以含有賦形劑。可以包含在製劑中的醫藥學上可接受的賦形劑是緩衝液, 例如檸檬酸鹽緩衝液, 磷酸鹽緩衝液, 乙酸鹽緩衝液, 碳酸氫鹽緩衝液, 胺基酸, 尿素, 醇, 抗壞血酸和磷脂; 蛋白質, 如血清白蛋白, 膠原蛋白和明膠; 鹽如EDTA或EGTA和氯化鈉; 脂

質體；聚乙烯吡咯啉酮；糖如葡聚糖，甘露糖醇，山梨糖醇和甘油；丙二醇和聚乙二醇（例如 PEG-4000，PEG-6000）；甘油；甘胺酸或其他胺基酸；和脂質。與製劑一起使用的緩衝系統包括檸檬酸鹽；乙酸鹽；碳酸氫鹽；和磷酸鹽緩衝液。磷酸鹽緩衝液是較佳的實施例。

【0246】 伴護蛋白化合物的給藥途徑可以是口服或非經腸給藥，包括靜脈內，皮下，動脈內，腹膜內，眼，肌內，口腔，直腸，陰道，眼眶內，大腦內，皮內，顱內，脊柱內，心室內，鞘內，腦池內，囊內，肺內，鼻內，透黏膜，透皮或藉由吸入。

【0247】 伴護蛋白化合物的上述非經腸製劑的給藥可以藉由定期注射製劑丸劑，或者可以藉由從在外部（例如，靜脈袋）或在內部（例如，生物可蝕性植入物）的儲庫來進行靜脈內或腹膜內給藥。

【0248】 涉及藥物製劑和給藥的實施例可以與本發明的任何其它實施例組合，例如涉及治療患有法布里病的患者的方法的實施例，治療法布里病的 ERT 初治患者的方法，減少腎 GL-3 的方法，穩定腎功能的方法，減少 LVM 或 LVMi 的方法，減少血漿溶酶體 -Gb₃ 的方法和 / 或治療胃腸症狀（例如腹瀉）的方法，增強診斷患有或懷疑患有法布里病的患者中的 α -Gal A 的方法，使用 α -Gal A 的藥用伴護蛋白來製備用於治療被診斷患有法布里病的患者的藥物或 α -Gal A 的藥用伴護蛋白用於治療被診斷為

法布里病的患者以及涉及順應突變、PC及其合適劑量的實施例。

【0249】 在一個或多個實施例中，PC(例如米加司他或其鹽)與ERT組合投與。ERT藉由以輸液方式外源引入野生型或生物功能性酶來增加蛋白質的量。如上所述，該療法已被開發用於許多遺傳疾病，包括諸如法布里病的LSD。輸注後，預期外源性酶將被組織藉由非特異性或受體特異性機制吸收。一般來說，攝取效率不高，外源蛋白的循環時間短。此外，外源蛋白質是不穩定的並且經受細胞內快速降解以及具有隨後處理的不利免疫反應的可能性。在一個或多個實施例中，伴護蛋白與替代酶(例如替代 α -Gal A)同時投與。在一些實施例中，伴護蛋白與替代酶(例如替代 α -Gal A)共配製。

【0250】 在一個或多個實施例中，患者從ERT轉換為米加司他療法。在一些實施例中，識別採用ERT的患者，中止患者的ERT，並且患者開始接受米加司他治療。米加司他治療可以根據本文所述的任何方法。

穩定腎功能

【0251】 本文所述的給藥方案可以穩定不同程度腎損傷的法布里患者的腎功能。在一個或多個實施例中，以每隔一天一次的頻率給予患有腎損傷的法布里患者約100 mg至約150 mg FBE的米加司他或其鹽。在一個或多個實施例中，患者每隔一天投與123 mg FBE的米加司他或其鹽，例如123 mg米加司他或150 mg米加司他鹽酸

鹽。在一個或多個實施例中，患者患有輕度或中度腎損傷。在具體的實施例中，患者患有輕度腎損傷。在其他具體的實施例中，患者患有中度腎損傷。患者可能是ERT初治或經歷ERT的。

【0252】 米加司他的投與可以持續一段時間。在一個或多個實施例中，將米加司他投與至少28天，諸如至少30、60或90天或至少3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、16、20或24個月或至少1、2、3、4或5年。在各種實施例中，米加司他治療是至少6個月的長期米加司他治療，例如至少6、7、8、9、10、11、12、16、20或24個月或至少1、2、3、4或5年。

【0253】 與沒有用米加司他治療的同一患者相比，米加司他治療可以減少法布里患者的腎功能下降。在一個或多個實施例中，米加司他治療為患者提供 $eGFR_{CKD-EPI}$ 的年化變化大於(即，比其更具正性) $-5.0 \text{ mL/min/1.73 m}^2/\text{年}$ ，例如大於 -4.5 ， -4.0 ， -3.5 ， -3.0 ， -2.5 ， -2.0 ， -1.5 ， -1.0 ， -0.9 ， -0.8 ， -0.7 ， -0.6 ， -0.5 ， -0.4 ， -0.3 ， -0.2 ， -0.1 或甚至大於 $0 \text{ mL/min/1.73 m}^2/\text{年}$ 。在一個或多個實施例中，米加司他治療為患者提供mGFR碘苯六醇的年化變化大於 $-5.0 \text{ mL/min/1.73 m}^2/\text{年}$ ，例如大於 -4.5 ， -4.0 ， -3.5 ， -3.0 ， 2.5 ， -2.0 ， -1.5 ， -1.0 ， -0.9 ， -0.8 ， -0.7 ， -0.6 ， -0.5 ， -0.4 ， -0.3 ， -0.2 ， -0.1 或者甚至大於 $0 \text{ mL/min/1.73 m}^2/\text{年}$ 因此，米加司他治療可以降低患者的腎功能下降或甚至改善患

者的腎功能。這些年度化的變化率可以在特定的時間段內測量，例如在6個月，12個月，18個月，24個月，30個月，36個月，48個月或60個月內。

【0254】 米加司他治療可以降低一組法布里患者的腎功能下降，例如具有不同程度腎損傷的法布里患者的亞群。在一個或多個實施例中，米加司他治療提供輕度，中度或嚴重腎損傷的法布里患者中大於 $-5.0 \text{ mL/min/1.73 m}^2/\text{年}$ 的 $\text{eGFR}_{\text{CKD-EPI}}$ 的平均年化變化率，諸如大於 -4.5 ， -4.0 ， -3.5 ， -3.0 ， -2.5 ， -2.0 ， -1.5 ， -1.0 ， -0.9 ， -0.8 ， -0.7 ， -0.6 ， -0.5 ， -0.4 ， -0.3 ， -0.2 ， -0.1 或甚至大於 $0 \text{ mL/min/1.73 m}^2/\text{年}$ 。在一個或多個實施例中，米加司他治療提供輕度，中度或重度腎損傷患者中大於 $-5.0 \text{ mL/min/1.73 m}^2/\text{年}$ 的 mGFR 碘苯六醇的平均年化變化率，例如大於 -4.5 ， -4.0 ， -3.5 ， -3.0 ， -2.5 ， -2.0 ， -1.5 ， -1.0 ， -0.9 ， -0.8 ， -0.7 ， -0.6 ， -0.5 ， -0.4 ， -0.3 ， -0.2 ， -0.1 或甚至大於 $0 \text{ mL/min/1.73 m}^2/\text{年}$ 。這些年平均變化率可以在特定的時間段內測量，例如6個月，12個月，18個月，24個月，30個月，36個月，48個月或60個月。

左心室質量

【0255】 本文所述的給藥方案可以改善法布里患者的 LVMI 。不論表型如何，未經治療的法布里患者 LVMI 和心肌肥厚的自然病史 (Patel, O'Mahony 等, 2015) 是 LVMI 在 $+4.07$ 和 $+8.0 \text{ g/m}^2/\text{年}$ 之間的逐漸增加

(Kampmann, Linhart 等 2008; Wyatt, Henley 等, 2012; Germain, Weidemann 等, 2013)。由於未治療的法布里患者通常表現出LVMI隨時間的增加，LVMI的減少和維持都是米加司他治療有益的跡象。

【0256】 與未經米加司他治療的同一患者相比，米加司他治療可以減少法布里患者的LVMI增加。在一個或多個實施例中，米加司他治療為患者提供小於(即，更負於)0 g/m²的LVMI變化，例如小於或等於約-0.5，-1，-1.5，-2，-2.5，-3，-3.5，-4，-4.5，-5，-5.5，-6，-7，-8，-9，-10，-11，-12，-13，-14，-15，-16，-17，-18，-19或-20 g/m²。以不同的方式表達，在一個或多個實施例中，米加司他治療提供大於0 g/m²的LVMI降低，例如降低至少約0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5，5、5.5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20 g/m²。在一個或多個實施例中，患者患有輕度或中度腎損傷。在具體的實施例中，患者患有輕度腎損傷。在其他具體的實施例中，患者患有中度腎損傷。患者可能是ERT初治或經歷ERT的。

【0257】 在一個或多個實施例中，在米加司他或其鹽投與18個月後，米加司他治療提供了一組經歷ERT的患者的至少約1 g/m²的LVMI平均降低。在各種實施例中，在投與米加司他或其鹽的18個月後，經歷ERT的患者組的平均下降為至少約1、2、3、4、5、6、7、8、9或10 g/m²。

【0258】 在一個或多個實施例中，在米加司他或其鹽投與18個月後，米加司他治療提供了具有中度腎損傷的經歷ERT的患者組中至少約 1 g/m^2 的平均LVMI降低。在各種實施例中，在投與米加司他或其鹽的18個月後，經歷ERT的患者組的平均下降為至少約1、2、3、4、5、6、7、8、9或 10 g/m^2 。

【0259】 在一個或多個實施例中，在米加司他或其鹽的24個月投與後，米加司他治療提供了一組ERT初治患者的至少約 1 g/m^2 的LVMI平均降低。在各種實施例中，在投與米加司他或其鹽之後24個月後，ERT初治患者組的平均減少為至少約1、2、3、4、5、6、7、8、9或 10 g/m^2 。

【0260】 在一個或多個實施例中，在米加司他或其鹽投與24個月後，米加司他治療提供了具有中度腎損傷的ERT初治患者組中至少約 1 g/m^2 的LVMI的平均降低。在各種實施例中，在投與米加司他或其鹽之後24個月後，ERT初治患者組的平均減少為至少約1、2、3、4、5、6、7、8、9或 10 g/m^2 。

【0261】 在此說明書全篇中對「一個實施例」、「某些實施例」、「各個實施例」、「一個或多個實施例」或「一實施例」之參考意味，結合該實施例所描述的特定特徵、結構、材料或特性包括於本發明的至少一個實施例中。因此，貫穿本說明書各處出現諸如「在一個或多個實施例中」，「在某些實施例中」，「在各種實施例中」，「在

一個實施例中」或「在實施例中」的片語不一定指涉及本發明的相同實施例。此外，可在一或多個實施例中以任何適合方式組合特定特徵、結構、材料或特性。

【0262】 儘管本發明已參考特定實施例加以描述，但應瞭解此等實施例僅說明本發明之原理及應用。對於熟習此項技術者來說顯而易見的是，在不脫離本發明的精神和範圍的情況下，可以對本發明的方法和設備進行各種修改和變化。因此，預期本發明涵蓋屬於附隨申請專利範圍及等效物之範疇的修改及變化。

【0263】 本申請案通篇引用了專利案、專利申請案、出版物、產品說明和方案，出於所有目的將其揭示內容全部以引用方式併入本文。

實例

實例 1：具有腎損傷的非法布里病患者中的米加司他的藥代動力學

【0264】 進行了一項臨床試驗來研究米加司他鹽酸鹽在有腎損傷的非法布里病患者中的藥代動力學和安全性。對患有輕度，中度和重度腎損傷和正常腎功能的受試者投與單次 150 mg 米加司他鹽酸鹽劑量。根據腎損傷研究的 FDA 指導，藉由 Cockcroft-Gault 方程來估算 eGFR。

【0265】 將志願者納入兩個群組，該等群組針對使用肌酸酐清除率 (CL_{CR}) 的 Cockcroft-Gault 方程來計算的腎功能來進行分層。根據使用 Cockcroft-Gault 方程計

算的篩選時的估計 CL_{CR} 將受試者分配到各個組。對於每個受試者，使用 WinNonlin® 軟體 (Pharsight Corporation, 版本 5.2) 藉由非房室分析確定以下血漿米加司他 PK 參數。

C_{max} 最大觀察濃度

t_{max} 達到最大濃度的時間

AUC_{0-t} 從第 0 小時到最後一個可測量濃度的濃度 - 時間曲線下的面積，對於濃度增加使用線性梯形法則並且對於濃度遞減使用對數法則來計算

$AUC_{0-\infty}$ 外推至無窮大的濃度 - 時間曲線下的面積，使用以下公式計算：

$$AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t} + Ct / \lambda Z$$

其中 Ct 是最後可測量的濃度， λZ 是表觀終末消除速率常數

λz 表觀終末消除速率常數，其中 λZ 是在最終階段期間對數濃度與時間曲線的線性迴歸的斜率的大小

$t_{1/2}$ 表觀終末消除半衰期 (只要可能)，其中

$$t_{1/2} = (\ln 2) / \lambda Z$$

CL/F 口服清除率，按照劑量 / $AUC_{0-\infty}$ 來計算

Vd/F 口服分佈體積，以劑量 / $AUC_{0-\infty} \cdot \lambda Z$ 來計算

C_{48} 在給藥後 48 小時的濃度

【0266】 測定的藥代動力學參數是：從時間零點到最後可測量的給藥後濃度 (AUC_{0-t}) 和外推至無窮大 ($AUC_{0-\infty}$) 的濃度 - 時間曲線下的面積 (AUC)，最大觀察濃度

(C_{max})， C_{max} 的時間 (t_{max})，給藥後 48 小時的濃度 (C_{48})，末端消除半衰期 ($t_{1/2}$)，口服清除率 (CL/F) 和表觀終末消除速率常數 (λ_z)。

【0267】 如果使用 Cockcroft-Gault 公式確定肌酸酐清除率 (CL_{CR}) 小於 90 mL/min (即 $CL_{CR} < 90$ mL/min)，則研究受試者被定義為腎受損。受試者根據腎功能不全程度分組：輕度 ($CL_{cr} \geq 60$ 和 < 90 mL/min)，中度 ($CL_{CR} \geq 30$ 和 < 60 mL/min) 或嚴重 ($CL_{CR} \geq 15$ 和 < 30 mL/min)

【0268】 在健康志願者和正常或輕度腎功能受損的法布里患者中研究了米加司他的血漿和尿液藥代動力學。在單劑量研究中，米加司他具有中等吸收率，在研究的劑量範圍內口服給藥後，在約 3 小時 (範圍，1 至 6 小時) 內達到最大濃度。平均 C_{max} 和 AUC_{0-t} 值在 75 mg 至 1250 mg 米加司他的口服劑量後以劑量成比例的方式增加。平均消除半衰期 ($t_{1/2}$) 為 3.04 至 4.79 小時。在單次遞增劑量 (SAD) 研究中評估的劑量中，在尿中回收的劑量的平均百分比對於 25 mg、75 mg、225 mg 和 675 mg 劑量組分別為 32.2%、43.0%、49.3% 和 48.5%。在多次遞增劑量研究中，僅觀察到血漿米加司他的最小積累。在 TQT 研究中，米加司他在 150 mg 和 1250 mg 單劑量下對心臟複極化的影響為負性 (Johnson 等, Clin Pharmacol Drug Dev. 2013 Apr; 2(2):120-32)。

【0269】在非法布里患者中進行的這種單劑量腎損傷研究中，單劑量米加司他鹽酸鹽150 mg的血漿濃度與具有正常腎功能的受試者相比隨著腎損傷程度的增加而增加。在單次口服劑量的米加司他鹽酸鹽150 mg後，與健康對照受試者相比，輕度、中度或重度腎損傷患者的平均血漿米加司他AUC_{0-∞}分別增加1.2倍、1.8倍和4.5倍。單劑量給藥後，與具有正常腎功能的患者相比，血漿米加司他AUC_{0-∞}值的增加在中度或重度腎損傷患者中有統計學意義，但患有輕度腎損傷的患者中無統計學意義。米加司他t_{max}在嚴重組中略有延遲；與健康對照受試者相比，在患有不同程度的腎損傷的受試者中，單次口服劑量的米加司他鹽酸鹽150 mg之後，在任何組中C_{max}沒有增加。與健康對照受試者相比，血漿米加司他C₄₈水準在中度受試者(主要來自CrCL < 50 mL/min的受試者)和嚴重腎損傷的受試者中升高。在腎功能正常的患者和輕度、中度或重度腎損傷患者中，血漿中米加司他的t_{1/2}隨著腎損傷程度的增加而分別增加(算術平均[最小，最大]：6.4 [3.66, 9.47]，7.7 [3.81, 13.8]，22.2 [6.74, 48.3]，和32.3 [24.6, 48.0] h)。平均CL/F隨著腎功能衰竭程度的增加而降低，並且從輕度至重度腎損傷的範圍為12.1至2.7 L/hr(Johnson等，American College of Clinical Pharmacology 4.4 (2015): 256 - 261)。

【0270】 米加司他清除率隨腎損傷增加而下降，導致與腎功能正常的受試者相比，米加司他鹽酸鹽血漿 $t_{1/2}$ 、 $AUC_{0-\infty}$ 和 C_{48} 增加。所有腎功能組的不良事件發生率均是可比較的。

【0271】 在單次口服劑量 150 mg 米加司他鹽酸鹽後，隨著腎損傷程度的增加，血漿暴露 (表示為 AUC_{0-t}) 增加。圖 1 A 顯示隨著 CL_{CR} 值降低，米加司他 AUC_{0-t} 值的增加。圖 1 B 顯示了每個腎功能組的平均 (SE) 血漿米加司他濃度 - 時間曲線。將 BLQ 值輸入為零並包含在平均值的計算中。

【0272】 如圖 1 C 所示，隨著腎損傷加重，血漿米加司他 AUC_{0-t} 值以非線性方式增加。結果表明，隨著腎損傷加重，血漿米加司他清除率下降，導致 $t_{1/2}$ 延長， C_{48} 值升高，總體血漿暴露 ($AUC_{0-\infty}$) 升高，特別是在嚴重腎損傷患者中。米加司他主要在尿中無變化地排泄。因此，血漿米加司他暴露的增加與腎損傷加重一致。

【0273】 結論：隨著腎損傷程度的增加，血漿米加司他清除率下降。

【0274】 PK 結果之概述顯示於下表 3 中。

表 3

PK 參數	單位	腎功能組			
		正常 (N=8)	輕度 (N=8)	中度 (N=8)	嚴重 (N=8)
AUC_{0-t}	(ng·hr/mL)	12306 (27.9)	14389 (31.1)	22126 (42.8)	53070 (27.0)
$AUC_{0-\infty}$	(ng·hr/mL)	12397 (27.7)	14536 (30.7)	22460 (42.2)	56154 (24.9)
C_{max}	(ng/mL)	2100 (26.0)	2191 (28.8)	1868 (32.1)	2078 (45.5)
t_{max}	(hr)	2.50 (1.50, 3.00)	2.50 (1.50, 4.00)	3.00 (1.50, 4.00)	4.27 (3.00, 8.00)

$t_{1/2}$	(hr)	6.42 (1.93)	7.66 (3.02)	22.2 (14.2)	32.3 (7.35)
CL/F	(L/hr)	12.1 (27.7)	10.3 (30.7)	6.68 (42.2)	2.67 (24.9)
C_{48}	(ng/mL)	5.70 (3.63)	9.34 (7.57)	64.5 (68.1)	334 (126)

實例 2：對腎損傷受試者進行多劑量模擬

【0275】在實例 1 的腎臟損傷研究中，相對於腎功能正常的受試者，在 $eGFR$ 值 ≤ 35 mL/min 時觀察到曲線下面積 (AUC) 和 QOD 給藥後在給藥後 48 小時米加司他的谷濃度 (C_{48}) 一致地增加 2 至 4 倍。

【0276】開發了群體 PK 模型來預測具有不同程度腎損傷的法布里患者中暴露和 IC_{50} 的時間。該實例提供向實例 1 的腎損傷受試者給藥的電腦模擬。關鍵假設是在具有腎損傷的非法布里病受試者中表現出的暴露度與在具有腎損傷的法布里病患者中的暴露度相同。該軟體程式是 WinNonlin 5.2 或更高版本。模型的條件如下所述。在模擬練習中包括 11 名 BSA 校正 $eGFR_{Cockcroft-Gault} \leq 35$ mL/min/1.73 m² 的受試者；3 例有中度腎損傷，但 ≥ 30 mL/min/1.73 m² 並且 ≤ 35 mL/min/1.73 m²，8 例 ≥ 14 mL/min/1.73 m² 並且 < 30 mL/min/1.73 m²。到第 7 劑量時呈現穩態。

【0277】使用 2 室模型來估計來自單劑量資料的 V_d 和消除速率常數。這些估計被輸入到每個分子劑量模擬方案中。

【0278】圖 2 顯示了 150 mg 米加司他鹽酸鹽 QOD 的給藥方案的平均模擬曲線。下面的表 4 顯示了暴露和積累比率。

【0279】圖3顯示來自實例1的AUC對C₄₈。該棒狀圖提供了所有腎功能水準的AUC與C₄₈濃度的視覺相關性，並且證明這兩個值具有良好的視覺相關性。

表4

受試者	腎功能組	BSA-Adj eGFR-Cockcroft-Gault (mL/min/1.73m ²)	AUC _{0-48h}	R _{ac48h}
1	中度(≥30 - ≤35)	35.3	31920	1.12
2	中度(≥30 - ≤35)	35.0	35320	1.17
3	中度(≥30 - ≤35)	32.2	17507	1.12
4	嚴重(<30)	18.4	59178	1.42
5	嚴重(<30)	17.0	44124	1.21
6	嚴重(<30)	20.6	37409	1.28
7	嚴重(<30)	15.8	41687	1.54
8	嚴重(<30)	21.9	45790	1.29
9	嚴重(<30)	29.3	56331	1.17
10	嚴重(<30)	14.4	23732	1.45
11	嚴重(<30)	24.4	39012	1.26
幾何平均值		22.9	37256	1.27
CV%		33.8	33.4	11.1

實例3：具有腎損傷的法布里患者中的米加司他的藥代動力學

【0280】上面的電腦建模提供了血漿米加司他暴露的情景，但它沒有考慮法布里患者的腎損傷。也就是說，資料不包括藥效成分(血漿溶酶體 - GB₃)。因此，評估了兩名患有腎損傷的法布里患者。一名患者(P1)患有中度腎臟損傷，而另一名患者(P2)患有嚴重腎臟損傷。下面的表5顯示與ERT初治法布里患者和來自實例1的腎損傷研究的中度受損受試者的研究相比，P1的血漿米加司他濃度。有間隔6個月獲得的兩組米加司他濃度測量結果，患者以前曾用米加司他治療過。表6顯示了P2的類似資訊，

除了與來自實例 1 的腎損傷研究的嚴重受損患者相比較之外。ERT 初治研究是在具有順應性突變的法布里患者中進行的，其中從稀疏血液採樣進行群體 PK。與來自 ERT 初治研究的結果的比較允許在具有大部分正常，但一些輕度和若干中度受損法布里患者的法布里人群中比較 PK。ERT 初治研究中的患者都沒有嚴重的腎損傷，因為這些患者被排除在研究之外。

表 5

小時標稱	時間 (hr)	米加司他濃度 (ng/mL)	6 個月後的米加司他濃度 (ng/mL)	與 ERT-初治研究 PK 的比較	與實例 1 中度損傷的比較
0	Pre-dose	19.9	36.4	8.70	64.5 (105.6%)
3	3 Hrs Post	1620	2160	1180 (31.0%)	1868 (29.7%)
24	24 Hrs Post	168	211	-	239 (85.1%)
48	48 Hrs Post	41.8	62.4	8.70	64.5 (105.6%)

表 6

小時標稱	時間文本	場合	米加司他濃度 (ng/mL)	與 ERT-初治研究 PPK 的比較	與實例 1 嚴重損傷的比較
2	2h	1	564	-	1549 (59.3%)
48	48h	1	322	8.70	334 (38.2%)
24	24h	2	569	-	770 (26.5%)
48	48h	2	260	8.70	334 (38.2%)

【0281】 如表 5 所示，雖然 C_{48} 濃度增加了 49%，但仍然與具有中度腎損傷的實例 1 非法布里病患者相似。 C_{max} 增加了 33%，但仍與實例 1 類似。對於中度腎損傷， C_{24} 與實例 1 相似。 $eGFR_{MDRD}$ 也保持在中度損傷的範圍內 (32 mL/min)。

【0282】 括號內的百分比是相對較高的變化係數，對應於時間 0 h 或時間 48 h 濃度的變化。這一結果可能是由於

實例 1 中有一半患有中度腎損傷的受試者具有低濃度且其中一半具有高濃度的事實。

【0283】對於 P 1 (第三和第四列)，48 小時的濃度高於 0 小時，但對於實例 1 的中度受損的人，48 小時的濃度與 0 小時相同。這是因為在 P 1 中，在時間 0 和 48 時分別取血樣。然而，在實例 1 中使用來自單劑量資料的重複劑量建模模擬輸出，因此這些值是相同的。

【0284】表 6 可以看到類似的趨勢。因此，表 5 和表 6 證實了具有類似腎損傷的法布里和非法布里患者中米加司他的相似藥代動力學。

【0285】圖 4 顯示了法布里氏病患者的血漿米加司他谷濃度 (C_{48}) 與實例 1 的腎損傷研究。圖 5 顯示平均 (SD) 腎損傷研究暴露與法布里患者估計的 AUC 的關係。從圖中可以看出，P 1 和 P 2 遵循非法布里病患者腎損傷研究結果的總體趨勢。

【0286】下面的表 7 顯示 P 1 的溶酶體 - G B₃ / e G F R 。

表 7

隨訪	溶酶體-Gb ₃ (nM/L)	eGFR (MDRD), IDMS 可追蹤
18 個月隨訪	11.1	42
24 個月隨訪	13.1	37
30 個月隨訪	10.8	不可用
34 個月隨訪	9.3	32

【0287】儘管腎功能持續下降至 eGFR 為 32 mL/min/1.73 m²，但血漿溶酶體 - G B₃ 未顯示與先前隨

防的臨床相關變化，而且血漿米加司他濃度與中度腎損傷的非法布里病患者中觀察到的濃度相似。

【0288】 這項研究表明，法布里患者的腎損傷和藥代動力學趨勢與非法布里患者的趨勢相關。

實例4：對腎損傷受試者的其他模擬

【0289】 該實例提供了實例1的腎受損受試者的米加司他給藥的其他電腦模擬。

【0290】 圖6A-D分別顯示正常、重度、輕度和中度腎受損受試者中模擬的中位數和觀察到的米加司他濃度與時間的關係。下面的表8顯示了資料：

表8

腎功能組 (CL _{CR} 範圍 mL/min)，N	C _{max} ^a (ng/ml)	AUC _{0-∞} ^a (hr*ng/ml)	AUC 比率	t _{1/2} ^c (hr)
正常(>=90)，8	2270 (37.6)	12808 (31.3)	-	6.2 (1.6)
輕度(>=60-<90)，8	2278 (22.5)	15359 (25.2)	1.2	8.0 (2.8)
中度(>=30-<60)，8	2058 (47.1)	23897 (38.9)	1.9	23.0 (13.3)
嚴重(<30)，4	2122 (29.1)	61208 (23.1)	4.8	32.5 (2.4)

^a 幾何平均數 (CV%)

^c 平均數 (SD)

【0291】 圖7A-D分別顯示正常、輕度、中度和重度腎受損受試者的模擬C_{max}，AUC，C_{min}和C₄₈。

【0292】 圖8A-D示出了QOD的穩態預測。虛線是來自QT研究的平均值。圖9A-D分別顯示了對於相同模擬的C_{max}，AUC，C_{min}和C₄₈。

實例5：在患有腎損傷和/或升高的蛋白尿的法布里病患者中的米加司他治療的臨床結果

【0293】 如上所述，在法布里患者中每隔一天(QOD)使用150 mg米加司他鹽酸鹽進行幾項研究。一項研究是一項在67名ERT初治患者中的24個月的試驗，包括6個月雙盲安慰劑對照期。另一項研究是對57名經歷ERT的患者進行的活性對照的18個月試驗，該試驗具有為期12個月的開放標籤延長(OLE)。ERT初治和經歷ERT研究均包括 $eGFR \geq 30 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ 的法布里患者。這些研究的研究設計顯示在圖10A-B中。

【0294】 在經歷ERT的研究中，主要療效參數是使用碘苯六醇清除率的測量GFR($mGFR_{\text{碘苯六醇}}$)和使用慢性腎臟疾病流行病學協作(CKD-EPI)公式的 $eGFR$ ($eGFR_{\text{CKD-EPI}}$)中從基線到第18個月的年度變化($\text{mL/min/1.73 m}^2/\text{yr}$)。還計算了使用腎臟疾病飲食調整的 $eGFR$ ($eGFR_{\text{MDRD}}$)的年度變化。

【0295】 在ERT初治研究中，主要功效參數是每個腎間質毛細血管中的GL-3包涵物。腎功能還藉由 $mGFR_{\text{碘苯六醇}}$ ， $eGFR_{\text{CKD-EPI}}$ 和 $eGFR_{\text{MDRD}}$ 評估。

【0296】 基於中度腎損傷(30至 $<60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$)，輕度腎損傷(60至 $<90 \text{ mL/min/1.73 m}^2$)和正常腎功能($\geq 90 \text{ mL/min/1.73 m}^2$)的順應患者的基線 $eGFR$ ，來自ERT初治研究的資料的事後分析檢查了亞組中的 $eGFR_{\text{CKD-EPI}}$ 年化變化率。 $eGFR_{\text{CKD-EPI}}$ 從基線至18/24個月的年化變化率如圖11所示。從圖11可以看出，中度腎損傷患者的 $eGFR_{\text{CKD-EPI}}$ 的平均值 $\pm \text{SEM}$ 年

化變化率為 $-0.7 \pm 3.97 \text{ mL/min/1.73 m}^2/\text{年}$ ，輕度腎損傷患者的 $\text{eGFR}_{\text{CKD-EPI}}$ 的年平均變化率為 $-0.8 \pm 1.01 \text{ mL/min/1.73 m}^2/\text{年}$ ，腎功能正常的患者的 $\text{eGFR}_{\text{CKD-EPI}}$ 的年平均變化率為 $0.2 \pm 0.90 \text{ mL/min/1.73 m}^2/\text{年}$ 。該資料顯示無論基線 eGFR 如何，都觀察到米加司他治療的腎功能穩定。

【0297】基於輕度/中度腎受損 (30 至 $<90 \text{ mL/min/1.73 m}^2$) 和正常腎功能 ($\geq 90 \text{ mL/min/1.73 m}^2$) 的患者的基線 eGFR ，來自經歷 ERT 的研究的資料事後分析檢查了亞組中的 $\text{eGFR}_{\text{CKD-EPI}}$ 和 mGFR 碘苯六醇的年化變化率。對於米加司他治療 (具有順應突變的患者) 和 ERT 的患者，圖 12 A - B 分別顯示了 $\text{eGFR}_{\text{CKD-EPI}}$ 和 mGFR 碘苯六醇 從基線到 18 個月的年化變化率。從圖 12 A 可以看出，具有正常腎功能的患者在米加司他治療時具有 $-0.4 \text{ mL/min/1.73 m}^2/\text{年}$ 的 $\text{eGFR}_{\text{CKD-EPI}}$ 的平均年化變化率，並且採用 ERT 時具有 $-1.03 \text{ mL/min/1.73 m}^2/\text{年}$ 的平均年化變化率。輕度或中度腎損傷患者的 $\text{eGFR}_{\text{CKD-EPI}}$ 的平均年化變化率在米加司他治療時為 $-3.33 \text{ mL/min/1.73 m}^2/\text{年}$ 並且在採用 ERT 時為 $-9.05 \text{ mL/min/1.73 m}^2/\text{年}$ 。從圖 12 B 可以看出，具有正常腎功能的患者的 mGFR 碘苯六醇 的平均年化變化率在米加司他治療時為 $-4.35 \text{ mL/min/1.73 m}^2/\text{年}$ ，在採用 ERT 時為 $-3.24 \text{ mL/min/1.73 m}^2/\text{年}$ 。輕度或中度腎損傷患者的 mGFR 碘苯六醇 的平均年化變化率在

米加司他治療時為 $-3.51 \text{ mL/min/1.73 m}^2/\text{年}$ ，在 ERT 時為 $-7.96 \text{ mL/min/1.73 m}^2/\text{年}$ 。該資料顯示，使用兩種 GFR 方法，米加司他治療和 ERT 對腎功能具有可比較的有利作用。

【0298】基於中度腎損傷 (30 至 $<60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$)，輕度腎損傷 (60 至 $<90 \text{ mL/min/1.73 m}^2$) 和正常腎功能 ($\geq 90 \text{ mL/min/1.73 m}^2$) 的基線 eGFR，來自經歷 ERT 的研究的資料的另一事後分析檢查了亞組中的 eGFR_{CKD-EPI} 年化變化率。圖 13 中顯示了米加司他治療 (具有順應突變的患者) 和 ERT 的患者從基線到 18 個月的年變化率。如圖 13 所示，腎功能正常的患者 eGFR_{CKD-EPI} 的平均 \pm SE 年變化率在米加司他治療時為 $-2.0 \pm 0.57 \text{ mL/min/1.73 m}^2/\text{年}$ ，並且在採用 ERT 時為 $-2.1 \pm 1.60 \text{ mL/min/1.73 m}^2/\text{年}$ 。輕度腎損傷患者的 eGFR_{CKD-EPI} 的平均 \pm SE 年變化率在加司他米治療時為 $-0.2 \pm 1.25 \text{ mL/min/1.73 m}^2/\text{年}$ 並且在採用 ERT 時為 $-7.3 \pm 6.01 \text{ mL/min/1.73 m}^2/\text{年}$ 。中度腎損傷患者的 eGFR_{CKD-EPI} 的平均 \pm SE 年變化率在米加司他治療時為 $-4.5 \pm 2.68 \text{ mL/min/1.73 m}^2/\text{年}$ 並且在採用 ERT 時為 $1.3 \text{ mL/min/1.73 m}^2/\text{年}$ 。該資料顯示，無論患者是否具有正常的腎功能或輕度腎損傷，米加司他均穩定了腎功能。儘管本次分析中包括的中度腎損傷患者人數為 2 人 (與 ERT 初治研究中的 3 人形成對比)，但這些資料支持在患有某種形式的腎損傷的患者中使用米加司他的療效。

【0299】來自這些研究的資料的進一步分析檢查了基於基線腎功能的 $eGFR_{CKD-EPI}$ 、 $LVMi$ 、 $WBC \alpha-Gal A$ 活性和血漿溶酶體 - Gb_3 水準的年化變化。每個腎臟亞組的結果顯示在下表 9 中，其中 ERT 初治研究亞組基於 $eGFR_{MDRD}$ ，並且經歷 ERT 的研究亞組基於 $mGFR$ 碘苯六醇。

表 9

治療	腎亞組	從基線的變化， 平均值 \pm SE [n]			
		$eGFR_{CKD-EPI}$ 的年化變化 $mL/min/1.73 m^2$	$LVMi$ ， g/m^2	$WBC \alpha-Gal A$ 活性， $4MU/hr/mg$ (僅男性)	血漿溶酶體 - Gb_3 ， $nmol/L$ (SD 代替 SE)
ERT 初治					
米加司他→ 米加司他 0-24 個月	30 至 <60	+3.2 \pm 1.1 [2]	-5.5 \pm 10.0 [2]	+1.4 [1]	-29.0 (41.5) [2]
	≥ 60	-0.7 \pm 0.6 [20]	-9.2 \pm 5.8 [14]	+1.6 \pm 1.5 [3]	-7.7 (24.5) [14]
安慰劑→ 米加司他 6-24 個月	30 至 <60	-2.8 \pm 2.8 [2]	-21.0 \pm 14.1 [2]	+4.0 \pm 3.0 [2]	—
	≥ 60	+0.1 \pm 0.7 [17]	-3.2 \pm 5.6 [10]	+5.2 1.4 [5]	-20.0 (28.7) [13]
經歷 ERT					
米加司他 0-18 個月	30 至 <60	-4.2 \pm 2.7 [2]	-10.2 \pm 2.4 [2]	+4.6 \pm 2.3 [2]	+0.5 (0.6) [3]
	≥ 60	-0.4 \pm 0.8 [32]	-4.8 \pm 2.3 [24]	+5.5 \pm 1.4 [12]	1.9 (5.8) [28]

【0300】從表 9 中可以看出，在 ERT 初治研究中，在兩個腎臟亞組中，24 個月時血漿溶酶體 - Gb_3 和 $LVMi$ 均降低，並且隨著米加司他的增加， $WBC \alpha-Gal A$ 活性增加。此外，不論腎功能如何，在 ERT 初治研究中，在使用米加司他時，從基線到第 6 個月，腎間質毛細血管 $GL-3$ 包涵物減少 ($eGFR < 60 mL/min/1.73 m^2$ ， -0.39 ， $n = 3$ ； $eGFR \geq 60 mL/min/1.73 m^2$ ， -0.30 ， $n =$

22)，但在使用安慰劑時未減少 (< 60 ， 0.04 ， $n = 2$ ； ≥ 60 ， 0.07 ， $n = 18$)。表9還顯示，在經歷ERT的研究中，在兩個腎臟亞組中，米非司他治療18個月期間，LVMI降低，WBC α -Gal A活性增加，溶酶體-Gb₃保持低水準和穩定。表9還顯示，在ERT初治和經歷ERT研究中，基線eGFR ≥ 60 mL/min/1.73 m²的患者的腎功能穩定。這些資料進一步支持了米加司他用於某些形式腎損傷患者的療效。

【0301】除上述研究外，其他患者還在其他研究如劑量發現研究和/或長期延長研究中接受了米加司他治療。完成一些研究的患者有資格在另外的延長研究中每隔一天繼續開放標籤米加司他鹽酸鹽150 mg。

【0302】進一步分析了完成多項研究的12名患者。使用線性迴歸來計算eGFR_{CKD-EPI}從基線開始的年化變化率。在此分析時，這12名患者的服用米加司他平均時間為8.2(標準偏差[SD]，0.83)年，治療中位時間為8.4(範圍6.3-9.3)年，11名患者接受米加司他鹽酸鹽150 mg QOD ≥ 17 個月。這12名患者的基線人口統計顯示在下表10中：

表 10

患者	年齡 (歲)	性別	eGFR (mL/min/1.73 m ²)
1	37	M	100.9
2	39	M	114.4
3	42	M	87.1
4	49	M	84.4
5	24	M	126.2
6	39	M	121.7

7	55	M	92.0
8	47	M	135.7
9	62	F	90.1
10	59	F	76.4
11	36	F	100.6
12	43	F	116.0
平均值(SD)	44.3 (10.7)	--	103.8 (18.7)
中位數(最小值，最大值)	42.5 (24, 62)	--	100.8 (76, 136)

【0303】 這些患者 $eGFR_{CKD-EPI}$ 的年化變化如下表 11 所示：

表 11

患者	$eGFR_{CKD-EPI}$ 的年化變化率， $mL/min/1.72 m^2$ ^a
1	-0.853
2	0.584
3	-2.838
4	0.488
5	0.001
6	-2.179
7	-0.704
8	-1.09
9	-0.443
10	0.219
11	-0.342
12	-0.871
平均值(95% CI)	-0.67 (-1.32, -0.02)

^a 包括米加司他治療的整個療程，包括患者接受各種米加司他給藥方案的時間和患者每隔一天接受米加司他鹽酸鹽 150 mg 的時間

【0304】 從表 11 可以看出，在這 12 例患者中，在整個米加司他治療過程(平均暴露，8.2 年)中，腎功能保持穩定($eGFR_{CKD-EPI}$ 年平均變化， $-0.67 mL/min/1.72 m^2$ [95% CI $-1.32, -0.02$])。在對米加司他鹽酸鹽 150 mg QOD ≥ 17 個月的 11 例患者進行的分析(平均暴露，4-5 年)中，腎功能也保持穩定($eGFR_{CKD-EPI}$ 的年平均

變化， $0.24 \text{ mL/min/1.72 m}^2$ [95% CI -1.7, 2.2])。基於性別和基線蛋白尿水準的這11名患者的腎結果顯示在下表12中：

表 1 2

性別	基線 24 小時尿蛋白(mg/24 h)類別 ^a	n	eGFR _{CKD-EPI} 的年化變化率， mL/min/1.73 m ² ， 平均值(95% CI)
全部	全部	11	+0.3 [-1.7, 2.2]
男性	<100	3	+0.4 [-4.1, 4.9]
男性	100-1000	4	+2.4 [-4.0, 8.8]
女性	<100	2	-1.6 [-2.4, -0.9]
女性	100-1000	2	-1.7 [-2.0, -1.3]

【0305】 這些結果表明，在用米加司他治療長達9年的患有法布里病以及順應突變的男性和女性患者中證明腎功能穩定。在廣泛的基線蛋白尿範圍內觀察到效果。

【0306】 另一項分析是對參與使用米加司他的多項研究的患者進行的。基於基線時的蛋白尿 (<100, 100-1000, >1000 mg/24 h)，計算患者的 eGFR_{CKD-EPI} 和 eGFR_{MDRD} 的年化變化率。接受米加司他鹽酸鹽 150 mg QOD ≥ 17 個月的具有順應突變的共 52 名 ERT 初治患者得到分析。下面的表 13 顯示了這些患者的基線蛋白尿和米加司他治療的持續時間。

表 1 3

基線 24 h 尿蛋白, mg/24 h	男性		女性	
	n	持續時間, 年, 中位數(最小值, 最大值)	n	持續時間, 年, 中位數(最小值, 最大值)
<100	3	4.8 (4.8, 4.8)	9	4.2 (2.0, 5.3)
100-1000	16	4.3 (1.5, 4.9)	19	3.5 (1.5, 5.0)
>1000	2	3.6 (3.0, 4.3)	3	3.7 (1.5, 4.1)

【0307】 從表13可以看出，大多數患者(67%)的基線時蛋白尿水準在100-1000 mg/24 h之間；23%的患者基線蛋白尿水準<100 mg/24 h，10%患者水準>1000 mg/24 h。基線蛋白尿亞組的中位治療持續時間為3.5至4.8年(最長，5.3年)。

【0308】 以下表14顯示了這些患者按照基線蛋白尿來分組的使用米加司他治療時的eGFR_{CKD-EPI}年平均變化。

表 1 4

基線 24 h 尿蛋白, mg/24 h	男性		女性	
	n	年化 eGFR _{CKD-EPI} 變化率, mL/min/1.73 m ² , 平均值 (SE)	n	年化 eGFR _{CKD-EPI} 變化率, mL/min/1.73 m ² , 平均值 (SE)
<100	3	0.4 (1.0)	9	-0.9 (0.4)
100-1000	16	0.2 (0.8)	19	-0.3 (1.0)
>1000	2	-5.1 (0.1)	3	-2.2 (1.3)

【0309】 從表14可以看出，在米加司他治療期間，基線蛋白尿≤1000 mg/24 h的大多數患者eGFR_{CKD-EPI}保持穩定。在基線時蛋白尿水準>1000 mg/24 h的患者中觀察到eGFR_{CKD-EPI}下降。

【0310】 將eGFR_{MDRD}的結果與在文獻中報道的未經治療的法布里病患者(自然病史群組；Schiffmann R等人，Nephrol Dial Transplant. 2009;24:2102-11)的eGFR_{MDRD}的變化進行比較，並示於下表15中：

表 1 5

基線 24h 尿蛋白, mg/24 h	男性		女性	
	n	年化 eGFR 變化率, mL/min/m ² , 平均值 (SEM)	n	年化 eGFR 變化率, mL/min/m ² , 平均值 (SEM)
米加司他群組				

<100	3	1.2 (1.2)	9	-0.9 (0.5)
100-1000	16	0.9 (1.0)	19	1.3 (1.5)
>1000	2	-4.3 (0.1)	3	-1.7 (1.1)
自然病史群組(Schiffmann 等 2009)				
<100	18	-1.6 (1.5)	7	-0.6 (2.6)
100-1000	21	-3.3 (1.8)	17	-2.2 (2.2)
>1000	22	-6.9 (1.5)	5	-4.6 (2.3)

【0311】 如表15所示，在蛋白尿類別中，在米加司他治療的患者中eGFR的平均年化變化總體上小於自然病史群組中觀察到的變化。雖然所有未治療亞組的平均eGFR均下降，但在基線蛋白尿<100 mg/24 h(男性)和100-1000 mg/24 h(男性和女性)患者中，發現使用米加司他導致平均eGFR增加。無論如何治療，基線蛋白尿>1000 mg/24 h的患者eGFR下降；然而，與自然病史群組相比，用米加司他治療的患者具有更小的降低。因此，無論基線蛋白尿水準如何，長期米加司他治療通常與患有法布里病以及順應突變的患者的穩定腎功能相關。

【0312】 本文提到的專利案和科學文獻確立了熟習此項技術者可用的知識。本文引用的所有美國專利案和公佈的或未公佈的美國專利申請案藉由引用併入本文。本文引用的所有公佈的外國專利案和專利申請案均藉由引用併入本文。本文引用的所有其他公佈參考文獻、文件、手稿和科學文獻都藉由引用併入本文。

【0313】 雖然已經參考其較佳實施例具體示出和描述了本發明，但是熟習此項技術者將會理解，在不脫離所附申請專利範圍所包含的本發明的範圍的情況下，可以在其中進行形式和細節上的各種改變。

【符號說明】

【 0 3 1 4 】 無

【生物材料寄存】

【 0 3 1 5 】 國內寄存資訊 (請依寄存機構、日期、號碼順序註記)

無

【 0 3 1 6 】 國外寄存資訊 (請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記)

無

【序列表】

<110> 美商阿米庫斯醫療股份有限公司 (Amicus Therapeutics, Inc.)

<120> 治療有腎損傷的法布里患者的方法

<160> 2

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1

<211> 12436

<212> DNA

<213> 智人

<400> 1

cccttctgta ggggcagaga ggttctactt cattactgcg tctcctggga aggccatcag 60

gactgctggc taaagtggga accaggactc tttgtgagtt aagaatttgt gtatttatat 120

gtgtgttata cacatTTTTT aaaaaactgt aacgacatca ggttgagcag tcgtctccgg 180

gtgggaatt atgtgtattt ttaaatttta tactatattg ttatttttca aatgttcgaa 240

attgaatatg tagattgttg ttatcagcag aaaaataaac attattcaaa tactctatct 300

agtaaagtaa tttattgggc gcctttgtca agcacgcatt tgccatgatg tgactctaca 360

gataaaattc acttggggcc tccccttaca gacaatcagg cagtggagac tgagtgcctg 420

aatggataga ccagcactca gaccactatt ttcagtatct gtttttctta actcagggcc 480

gtggttttca aacgttttcc gccttacggt cacccttagg gtcccccgag accggcccag 540

acagacagat atacaaaaac acatacacag tcatgagcgt ccaccattc cccaccagge 600

gcagcacagg cggcttcccg gcaactgatg gggggggagg agggagagag cgcgaggggg 660

gaggggaaag cagagaacga aagaggcgga ggcggccccc gaaccccgt ctggtcttca 720

tcatcaccac ccctgggtcc ccagttccca cccacacacc aacctetaac gataccgggt 780

aattttcttc cttcttcctt caaacggcta tagcgagacg gtagacgacg accagaacta 840

cttctgctca cgtaagecag taatcacgtg agcgcctacg tcatgtgaga tctcggtcac 900

gtgagcaact ctcggettaa actcgggata actaagggtc cgcacttccet tctggtatgg 960

aaatagggcg ggtcaatata aagaaaggaa gagggtgatt ggtagcgga acgtcttacg 1020

tgactgatta ttggtctacc tctggggata accgtcccag ttgccagaga aacaataacg 1080

tcattattta ataagtcata ggtgattggt cgcgccctga ggtaaatctt aaaagcccag 1140

gttaccgcg gaaatztatg ctgtccggtc accgtgacaa tgcagctgag gaaccagaa 1200

ctacatctgg gctgcgcgct tgcgcttgc ttcttgccc tegtttctg ggacatccct 1260

gggctagag cactggacaa tggattggca aggacgccta ccatgggctg gctgcactgg 1320

gagcgcttca tgtgcaacct tgactgccag gaagagccag attcctgcat caggtatcag 1380

atattgggta ctcccttccc ttgtctttc catgtgtttg ggtgtgtttg gggaactgga 1440

gagtctcaac gggaacagtt gagcccagg gagagctccc ccaccgact ctgctgctgc 1500

ttttttatcc ccagcaaaact gtccegaate aggactagcc ctaaacttct tctgtgtgac 1560

ctttcctggg atgggagtcc ggccagcggc cctgtttct ttctctctct ctctctctct 1620

cgttctcctt ctctttctct ttctcttctt tctctctct ttctctctct ccctgcccgg 1680

ttctcttttt tcaactgctc ttgcagagca gggccacccc ataggcagtg tgcccaaagt 1740

agccctgccc ggttctatc agacccttct tgtgaacttc tgctcttct ctgcccgggtg 1800

ctaaccgtta gaacatctag ggtgggtagg aggaatgggg aactaagatt cgtgccattt 1860

ttctctcttt tggggctgtg gatttctcgg cagtatctcg agggagttag agagaccata 1920

aggctgctga gatctctccc acctgcccc tgagcgtggc atcaggctgg aaggttgaca 1980

tggaggaact ttatacattt acacctttgc gtgagggttg aggctggatt agataggtat 2040

tgaacatac tgaccctcac aatccttata tgtaaattgg gattacaacc ttttaatttc 2100

agggagctga caaaaaaat ctgaaaaata gttcttatct cacacaggtg agttttcaag 2160

gagataacct atttaaagta catagcacag cgettgacca ttcaactgcg cttacagagc 2220
aatgttcaa tgggaaaatg aatgtaaate tacaaatctg aatgaatatg tgtatttttc 2280
tggagagagg atattttacct ttcttcaaat tctcaaaggg ctctgtgatt taaaaaagg 2340
taggaatcac tgatagatgt tggtaaaagg tggcagtcac agtacatttc tgtgtccata 2400
agttattcct atgaatatct ttatagataa agtcaggatg ttggtcagac atcacagaag 2460
aaattggcct tgtaagtttc atgtgacct gtggtacagt atgtgtggca attttgecca 2520
tcaeggattt ttttttattg gtatttgcac ctgattataa aactaatgea tgatcattgc 2580
aaaaaatgta gataaagaag agcaaaatga aaataaagat ttccccccac cgttccacca 2640
cccagaaata atcatggttt aatgttaat atacaacctt acaattgttt tctatataaa 2700
tgaaaacata gatttcttta tttcattatt ttccataaaa aatggatcat gtttatgtca 2760
tgtttgcta atggcaagac cctggcacc cagctgggct caaattctgc ctcatgtta 2820
cttagccctg tgacattggg taaattacac tttttttttt tttttttttt tgagacgggg 2880
tctcgtctg tgcgccagc tggagtgcag tggcagcagc tggctcact gcaagtcgc 2940
ctcctgggtt cacgccattc ttctgcctca gctcccag tagctgggac tacaggcgc 3000
tgccaccacg cctggctctt tttttttttt tttttttttt tagtacagac ggggtttcac 3060
catgttagcc aggggtgtct caatctctg acctgtgat tgcgccct cagcctcca 3120
aagtgtggt gtgagccacc gtgccagcc ttaacttttt ttttgagagg gggctcact 3180
ctgtcacca ggttgagtg cagtggcg atctctgctc agtgcaaact ccacctccc 3240
ggttaagea gttctctgt cgtagctcc tgagtagctg ggattacag cacaccacca 3300
cgccagcta attttgtat tttcagtaga gacgggtttc accatgttg ccaagctggt 3360
ctgcaactc tggcctcaag tgatctgcc gcttggcct ccagagtgc tgggattaca 3420
ggtgtgagc accgcaccg gctcttttt ttttttttag tctatcatac cttgcaata 3480

cagtggttct tcctatgtgt tggttttgat atttatgtaa tcaaacacat cagtttttcc 3540

tttctgattt ctgactttgg ggteatgctg agaaagtctt ttectacctg aagataatac 3600

agtatatacg tttcttacta gtatTTTTgt ggatttttaa aatatttaaa tctttagttc 3660

atctgaactt gttcttctat cagaaatgcc acatttaata aataataagt cccatggtat 3720

cagatggctg gaaggacctc tttegaact ttgtttaatt ccattaatct gtgtattctt 3780

attctaagtc taatagttcc aactagctt ctttatctt tttttcttt ttttttttt 3840

ttttgagctg gagtttctct cttgttgccc aggetggagt acaatgtcac gatctcggtt 3900

caccgcaacc tccgectccc aggttcaagc aattctctg cctcatctc gcgagtagct 3960

ggaattacag gcatgcgcca ccacgctag ctatTTTgta tttttagtag agatggggtt 4020

tctccatggt ggtcaggctg gtctcaact ccacgctca ggtgatctgc ctgcctcggc 4080

ctcccaaat gctgttatta caggcgtgag ccaccagcc cagccttcat cttttaatga 4140

atgtacatgt atgtaatctt ttaggtgaac tttttgtaat gttgtgcaa gttccttaaa 4200

aagccctttt ggaagctggg caggTggcca egcctgtaat cccagcattt tgggagtctg 4260

aggcaggtgg atcacttgag gccaggagtt caagactagc ctagccaaaa tgcaaaaccc 4320

tgtctctact aaagatacaa aaattagccg gatgcgatgg cacatgcctg taatctcagc 4380

tactcgggag gctgaggtag aagaatcgt tgaaccggg aggcagaggt tgcagtgagc 4440

aagatggcgc cactgcactc cagcctgggt gacagaggga gactccatct caaaaaaaaa 4500

aaaaaaaaa aagataaaaa ggaaacctaa gtactcttgg gctttgttaa ggattttgtt 4560

aatatacaa aggattgcag ggaaaattaa cttatTTTTa atattgagta tgcttatcca 4620

agagcaaat aatatttctc catttattca aatcatttag gagcatcata gttttaacat 4680

atgggccttg cacgtatctt aaatttatct ctaggcattt taggttgttc agttgttctt 4740

gtgaatggga tcttttctc caaataggat tattgttgat atctgttgat tatgttaact 4800

ttgtagtttc tgactttact gaactgtett ctagateta atactctttt caatttcac	4860
atatatttct cattcctatt ttgtttgggg ttttaggge gggaatatta acgggataag	4920
agagacaaaa gaaaatctgg aaaaacaatt cattttacct tacattgctt gtgattacta	4980
ccacactatt actgggttgg aaaaaattgt gaaatcccaa ggtgcctaataaatgggagg	5040
tacctaagtg ttcatttaata gaattgtaata gattattgga atttctcttt cagtgagaag	5100
ctcttcatgg agatggcaga gctcatggtc tcagaaggct ggaaggatgc aggttatgag	5160
tacctctgca ttgatgaetg ttggatggct ccccaaagag attcagaagg cagacttcag	5220
gcagaccctc agcgetttcc tcatgggatt cgccagctag ctaattatgt gagtttatag	5280
ataatgttct tgttcattca gaggactgta agcacttctg tacagaagct tgtttagaaa	5340
cagccctcat ggccggcgt ggtggctcac gctgtaatcc caacactttg ggaggccgag	5400
gcggttgat cacctgaggt caagattca agaccagcct ggccaacatg gtgaaacccc	5460
aactctatta aaagtacaaa aaattagctg ggcattggtg tgaacgctg taaccccagc	5520
tacttgggag gctgaggcag gagaatcgt tgaaccagg aggtggaagt ttcagtgage	5580
tgagatcacg ccattgcaact ctagecctgg caacaaaaga gaaactccat ctcaaaaaaa	5640
aaaacaagga aaaaaagaaa cagccctcat gacacttaga aagtagaata gctggctgtt	5700
atctgaacat tgaattgtaa ggcttatcag gtggactttg cattccatca gcagacaatt	5760
tttttttttt tttttttttg agatggagtc tcattctgtc tcccaggctg gagggcagtg	5820
gtgcgatctc ggctcaetgc aagetccacc tctgggttc atgccattct cctgectcag	5880
cctcccaagt agctgggacc acaggcacc gccaccatgc ccagttaatt tttgtattt	5940
ttagtagaga cggggtttca ccatgttagc caagatggtc togatctct gacctctga	6000
tccgccacc tcggcctccc aaagtctgg gattacagge atgagccacc gcgcctagcc	6060
tacaaatgtt ttgtaatage tcttgagcc catcttgag ttctctttt gctaaaacca	6120

ctgaactctc taggaggaaa aaggaacttg gttcttgaca tatgtgtgca tgtatttcca 6180
tataaccttt aggaagetat tgcaatggta ctataaacta gaattttaga agatagaagg 6240
aaaatattct ggagatecatt gaagagaaat ggagtccaac actagttaaa gatgatgaag 6300
acagatTTTT ttttttgacg gagtctcgct ctgtcgccca ggctggagtg cagtggcaca 6360
atctcagctc actgcaacce tccacctctt gggttcaagt gattctctg cctcagctc 6420
ccaagtagct gggactacag gcgcacacca ccacgcccg ctaatttttg tatttttagt 6480
agagacaagg tttcaccata ttegccagge tggctcgaa ctctgacct tgtaatccgc 6540
ccaccttggc ctcccaaagt gctgggatta caggcatgag ccaccagcc cggccgatga 6600
agacagattt tattcagtac taccacagta gaggaaagag ccaagttcaa ttccaaatac 6660
aacaagaca ggtggagatt tatagccaat gacagattg agggggtcag tggatggaat 6720
atttaagaag acatcaaggg tagggagctt cttgctaaag cttcatgtac ttaaacaaga 6780
agggtggggg atgagggaaa ttgatcagat atcaatggtg gcagtattga cttagcagga 6840
ttcttgctaa gaggtcttgc taggacagac ataggaagcc aagggtggagg tctagtcgaa 6900
aagaaggctc atcagagaag tctaactaaa gtttgggtcaa gaagagtctt tgtcaaggta 6960
aatctatcat ttcctcaaa aggtaatttt caggatccca tcaggaagat tagcatggct 7020
gctagctttc tctcagttc tgggctatag ctacatgcc tagtttgaac tagctcagca 7080
gaactggggg atttattctt tgtcttccaa caaactcacc tggatgattt tgggggtttg 7140
tggggaaaag ccccaatac ctggtgaagt aaccttgtct ctccccccag cctggaatgg 7200
ttctctcttt ctgctacctc acgattgtgc ttctacaatg gtgactcttt tctcctct 7260
catttcaggt tcacagcaaa ggactgaagc tagggattta tgcagatgtt gaaataaaa 7320
cctgcgcagg ctccctggg agttttggat actacgacat tgatgccag accttctg 7380
actggggagt agatctgcta aaatttgatg gttgttactg tgacagtttg gaaaatttg 7440

cagatggtaa tgtttcattc cagagattta gccacaaagg aaagaacttt gaggccatgg 7500
 tagctgagcc aaagaaccaa tcttcagaat tttaaatacc ctgtcacaat actggaaata 7560
 attattctcc atgtgccaga gctcccatct ctctctttc agttcattaa ttaattaatt 7620
 aattcatgta aatccatgc atacctaacc atagctaata ttgtgcactt ataattcaag 7680
 agggtcttaa gagttaatta gtaattgtaa ctctctataa catcatttag gggagtccag 7740
 gttgtcaatc ggtcacagag aaagaagcat ctccattcct gcctttctc aatatacaca 7800
 ccatctctgc actacttctc cagaacaate ccagcagtct gggaggtaact ttacacaatt 7860
 taagcacaga gcaactgcct gtcctgctg ctagttaaa catgaacctt ccaggtagcc 7920
 tcttcttaa atatacagcc ccagctgggc atgatggctc atgcctgtaa tcctagcact 7980
 ttgggaggct gaggcgggtg gattacttga ggtcaggagt tcgagaccac cctggccaac 8040
 atggtgaaac cccatctcta gtaaaaatac aaaaattagc tgactttggt ggcacatgcc 8100
 tgtaatccca gctacttggg aagctgagac agaagagtca cttgaacctg ggaaacagag 8160
 gttgcagtga gccaaagatcg caccactgca ctccacctg gatgacagac tgaacccat 8220
 ctcaaaaaat taaaataaaa taaaataaaa taactatata tatagcccca gctggaaatt 8280
 catttcttc ccttatttta cccattgttt tctcatacag gttataagca catgtccttg 8340
 gcctgaata ggactggcag aagcattgtg tactctgtg agtggcctct ttatatgtgg 8400
 ccctttcaaa aggtgagata gtgagcccag aatccaatag aactgtactg atagatagaa 8460
 cttgacaaca aaggaaacca aggtctcctt caaagtcaa cgttacttac tatectcta 8520
 ccatctctcc caggttccaa ccacttctca ceatccccac tgctgtaatt atagectaag 8580
 ctaccatcac ctggaaagtc atccttgtgt ctccccctt atttcacat tcatgtcctg 8640
 tctatcaaca gtccttcac cagtatctct aaaatatctc ctgaatcage ccacttctt 8700
 ccatcttcac tacatgcacc ctggccttcc aagctactat cggtctctca ccagactgct 8760

gggaccacct gatctctctg cttccactct gtctcaacce ccatctatct tccaagcagc 8820
 actagagtta tcatattaaa atgtaaatat cagttttttt tttaaagaaa aaaacctga 8880
 gacttaacag agttataaaa aatataaatg tcatcatcag ttccctgctt aaaacctta 8940
 actcgcttcc aattgcaactt ggaatgaaac caaactgcac tgatccagcc cttgctgccc 9000
 tcccaaagt ccaaggggtc atggctcttt cctggctac actggttttc tttctgtccc 9060
 tcaaacactgc aagcctattg ctgccccagg gcctttacac ttgctttttt tctgctaga 9120
 acagttcttc cccaaagatt tttaaagggc cgggctcctt aacattgaag tgcagacca 9180
 aacgccacat atgcagacag ttcttctcta actactttaa aatagecctc tgtccattca 9240
 ttcttcatca cattaacctg tttaatcttc ttctcagagc tccacactat ttggaagtat 9300
 ttgttgactt gttaccatgt ctccccacta gagtgttaagt ttcattgagg caggacctt 9360
 gtctgacttt gactgtatct ctgcatatg gtttaagtgtt aaatagttat ttatggaatg 9420
 aatccctatt attcctcat tatctctgca aaatagtctt tttctcaac atcttaaacc 9480
 tgatatecca cctgectatc tacaaaacttt ttttttgga cagagtctca ctgtcaccca 9540
 ggctagagtg cagtggcgcc atctcgctc actgcaacct ccgctcccg ggtttaagcg 9600
 attctcttgc ctgacctcc cagtagctgg gattataggc gtgcgctacc acatctggct 9660
 aatctttgta tttttagtag agatggttc accatgttg ccaggcttgt ctgaaactcc 9720
 tgacctcaga tgatccacct gctcggcct cccaaagtgc tgggattaca ggcattgagc 9780
 accgtgccc gctctacaa actttttatt ccattaacaa actatatget gggatttaag 9840
 tttcttaat acttgatgga gtctatgta atttcagagc ttttaatttt actaagacca 9900
 ttttagttct gattatagaa gtaaattaac ttaagggat ttcaagttat atggcctact 9960
 tctgaagcaa acttcttaca gtgaaaattc attataaggg tttagacctc cttatggaga 10020
 cgttcaatct gtaaactcaa gagaaggcta caagtgcctc ctttaactg tttctatctc 10080

acaaggatgt tagtagaaaag taaacagaag agtcatatct gttttcacag cccaattata 10140
cagaaatccg acagtactgc aatcactggc gaaattttgc tgacattgat gattcctgga 10200
aaagtataaa gagtatcttg gactggacat cttttaacca ggagagaatt gttgatgttg 10260
ctggaccagg gggttggaat gaccagata tggtaaaaac ttgagccctc cttgttcaag 10320
accctgcggt aggcttgttt cctattttga cattcaaggt aaatacaggt aaagttcctg 10380
ggaggaggct ttatgtgaga gtacttagag caggatgctg tggaaagtgg tttctccata 10440
tgggtcatct aggtaacttt aagaatgttt cctcctctct tgtttgaatt atttcattct 10500
ttttctcagt tagtgattgg caactttggc ctcagctgga atcagcaagt aactcagatg 10560
gccctctggg ctatcatggc tgctccttta ttcattgtcta atgacctcgg acacatcagc 10620
cctcaagcca aagctctcct tcaggataag gacgtaattg ccatcaatca ggacccttg 10680
ggcaagcaag ggtaccagct tagacaggta aataagagta tatattttaa gatggcttta 10740
tataaccaat accaactttg tcttgggect aaatctattt ttttcccttg ctcttgatgt 10800
tactatcagt aataaagett cttgctagaa acattacttt atttccaaaa taatgetaca 10860
ggatcatttt aatttttcct acaagtgctt gatagttctg acattaagaa tgaatgcca 10920
actaacaggg ccacttatca ctagttgcta agcaaccaca ctttcttggg ttttcagga 10980
gacaactttg aagtgtggga acgacctctc tcaggcttag cctgggctgt agctatgata 11040
aacggcagg agattgggtg acctcctctt tataccatcg cagttgcttc cctgggtaaa 11100
ggagtggect gtaatctgc ctgcttcate acacagctcc tcctgtgaa aaggaageta 11160
gggttctatg aatggacttc aaggtaaga agtcacataa atcccacagg cactgttttg 11220
cttcagctag aaaatacaat gcagatgtca ttaaagact tactttaaaa tgtttatfff 11280
attgccaact actacttctt gtccaccttt ttctccatc actttaaaag ctcaaggeta 11340
ggtggetcat gcctgtaate ccagactttt gggaggctga ggcgggcaga tcacctgagg 11400

tcgggacttt gagaccgcc tggacaacat ggtgaaacce catttctaataaaaaatataa 11460
 aaattagcca ggtgtggtgg cgcacctgtg gtcccagcta ctctgggggc tgaggeatga 11520
 gaatcgcttg aaccggggag tggaggttgc attgagctga gatcatgcca cctcaactcca 11580
 gcctgggcaa caaagattcc atctcaaaaa aaaaaaaaaa gccaggcaca gtggetcatg 11640
 cctggaatcc cagcactttt ggaagctgag gcaggcagat cacttgaggt taggatttca 11700
 agaccagcct ggctaacata gtaaagccct gtctctacta aaaatacaaa aattagccag 11760
 gtatggtgge gagcttctgt agccccagct actcaggaga ctgaggcagg agaateactt 11820
 gaaccgggga agtggggggg tgcagtgacc caagatcacg ccaactgcatt ccagcctggg 11880
 caacagagca agactccatc tcaaaaaaaaa aagtctctatt tccttgaata aaattttccg 11940
 aagtttaaac tttaggaata aaactattaa acccgtattt actcatccag ataccaccc 12000
 cccttgttga gattctctcc caattatcaa aatgtgtage atatttaact accaagagct 12060
 aaacatcatt aagactgaaa tgtattaaga aggatgtata ggccaggcac ggtgtctcac 12120
 gcctgtaate ccaacacttt gggaggccaa gtccggcgga tcacgaggtc aggagatgga 12180
 gaccatcctg gccaacatgg tgaaccccc tctctactaa aaatacaaaa attagccagg 12240
 caggtggcag gcacctgtaa tcccagctac tccagaggct gaggcaggac aatcacttga 12300
 acctgggagg cagaggctgc agtgagctga ggtgtacca attgcactcc agcctaggta 12360
 acgagcaaca ctccatctca aaaaaagaaa aaaaaaaga tgtataattt ggaactgtta 12420
 agaggcattt taaaga 12436

<210> 2
 <211> 429
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 2

Leu Glu Asn Leu Ala Asp Gly Tyr Lys His Met Ser Leu Ala Leu Asn
 180 185 190

Arg Thr Gly Arg Ser Ile Val Tyr Ser Cys Glu Trp Pro Leu Tyr Met
 195 200 205

Trp Pro Phe Gln Lys Pro Asn Tyr Thr Glu Ile Arg Gln Tyr Cys Asn
 210 215 220

His Trp Arg Asn Phe Ala Asp Ile Asp Asp Ser Trp Lys Ser Ile Lys
 225 230 235 240

Ser Ile Leu Asp Trp Thr Ser Phe Asn Gln Glu Arg Ile Val Asp Val
 245 250 255

Ala Gly Pro Gly Gly Trp Asn Asp Pro Asp Met Leu Val Ile Gly Asn
 260 265 270

Phe Gly Leu Ser Trp Asn Gln Gln Val Thr Gln Met Ala Leu Trp Ala
 275 280 285

Ile Met Ala Ala Pro Leu Phe Met Ser Asn Asp Leu Arg His Ile Ser
 290 295 300

Pro Gln Ala Lys Ala Leu Leu Gln Asp Lys Asp Val Ile Ala Ile Asn
 305 310 315 320

Gln Asp Pro Leu Gly Lys Gln Gly Tyr Gln Leu Arg Gln Gly Asp Asn
 325 330 335

Phe Glu Val Trp Glu Arg Pro Leu Ser Gly Leu Ala Trp Ala Val Ala
 340 345 350

Met Ile Asn Arg Gln Glu Ile Gly Gly Pro Arg Ser Tyr Thr Ile Ala
355 360 365

Val Ala Ser Leu Gly Lys Gly Val Ala Cys Asn Pro Ala Cys Phe Ile
370 375 380

Thr Gln Leu Leu Pro Val Lys Arg Lys Leu Gly Phe Tyr Glu Trp Thr
385 390 395 400

Ser Arg Leu Arg Ser His Ile Asn Pro Thr Gly Thr Val Leu Leu Gln
405 410 415

Leu Glu Asn Thr Met Gln Met Ser Leu Lys Asp Leu Leu
420 425

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種包含結合至 α -半乳糖苷酶 A 蛋白質的米加司他 (migalastat) 的分子，該 α -半乳糖苷酶 A 蛋白質包含選自由 D55G、H125Y、Q157H、L166S、N215I、K240N、G261R、L275V、N278Y、W287L、K308E 以及 P343T 所組成的群組的 HEK 測定順應性突變。

【請求項2】 如請求項1所述的分子，其中該突變選自由 D55G、Q157H、L166S、N215I、K240N、G261R、L275V、N278Y、K308E 以及 P343T 所組成的群組。

【請求項3】 如請求項1所述的分子，其中該突變選自由 Q157H、L166S 以及 K240N 所組成的群組。

【請求項4】 如請求項1所述的分子，其中該突變選自由 D55G、H125Y、Q157H、L166S、N215I、K240N、G261R、L275V、N278Y、W287L 以及 K308E 所組成的群組。

【請求項5】 如請求項1所述的分子，其中該突變選自由 D55G、H125Y、Q157H、L166S、K240N、G261R、L275V、N278Y、W287L 以及 K308E 所組成的群組。

【請求項6】 如請求項1所述的分子，其中該突變選自

由 D 5 5 G、Q 1 5 7 H、L 1 6 6 S、N 2 1 5 I、K 2 4 0 N、G 2 6 1 R、L 2 7 5 V、N 2 7 8 Y 以及 K 3 0 8 E 所組成的群組。

【請求項 7】 一種具有 HEK 順應性突變的 α -半乳糖苷酶 A 蛋白質，該 HEK 順應性突變選自由 D 5 5 G、H 1 2 5 Y、Q 1 5 7 H、L 1 6 6 S、N 2 1 5 I、K 2 4 0 N、G 2 6 1 R、L 2 7 5 V、N 2 7 8 Y、W 2 8 7 L、K 3 0 8 E 以及 P 3 4 3 T 所組成的群組，其中該蛋白質結合至米加司他 (migalastat)，以及該蛋白質與天然產生且具有相同突變的 α -半乳糖苷酶 A 蛋白質相比具有增加的穩定性。

【請求項 8】 如請求項 7 所述的 α -半乳糖苷酶 A 蛋白質，其中該突變選自由 D 5 5 G、Q 1 5 7 H、L 1 6 6 S、N 2 1 5 I、K 2 4 0 N、G 2 6 1 R、L 2 7 5 V、N 2 7 8 Y、K 3 0 8 E 以及 P 3 4 3 T 所組成的群組。

【請求項 9】 如請求項 7 所述的 α -半乳糖苷酶 A 蛋白質，其中該突變選自由 Q 1 5 7 H、L 1 6 6 S 以及 K 2 4 0 N 所組成的群組。

【請求項 10】 如請求項 7 所述的 α -半乳糖苷酶 A 蛋白質，其中該突變選自由 D 5 5 G、H 1 2 5 Y、Q 1 5 7 H、L 1 6 6 S、N 2 1 5 I、K 2 4 0 N、G 2 6 1 R、L 2 7 5 V、N 2 7 8 Y、W 2 8 7 L 以及 K 3 0 8 E 所組成的群組。

【請求項 11】如請求項 7 所述的 α -半乳糖苷酶 A 蛋白質，其中該突變選自由 D55G、H125Y、Q157H、L166S、K240N、G261R、L275V、N278Y、W287L 以及 K308E 所組成的群組。

【請求項 12】如請求項 7 所述的 α -半乳糖苷酶 A 蛋白質，其中該突變選自由 D55G、Q157H、L166S、N215I、K240N、G261R、L275V、N278Y 以及 K308E 所組成的群組。

(發明圖式)

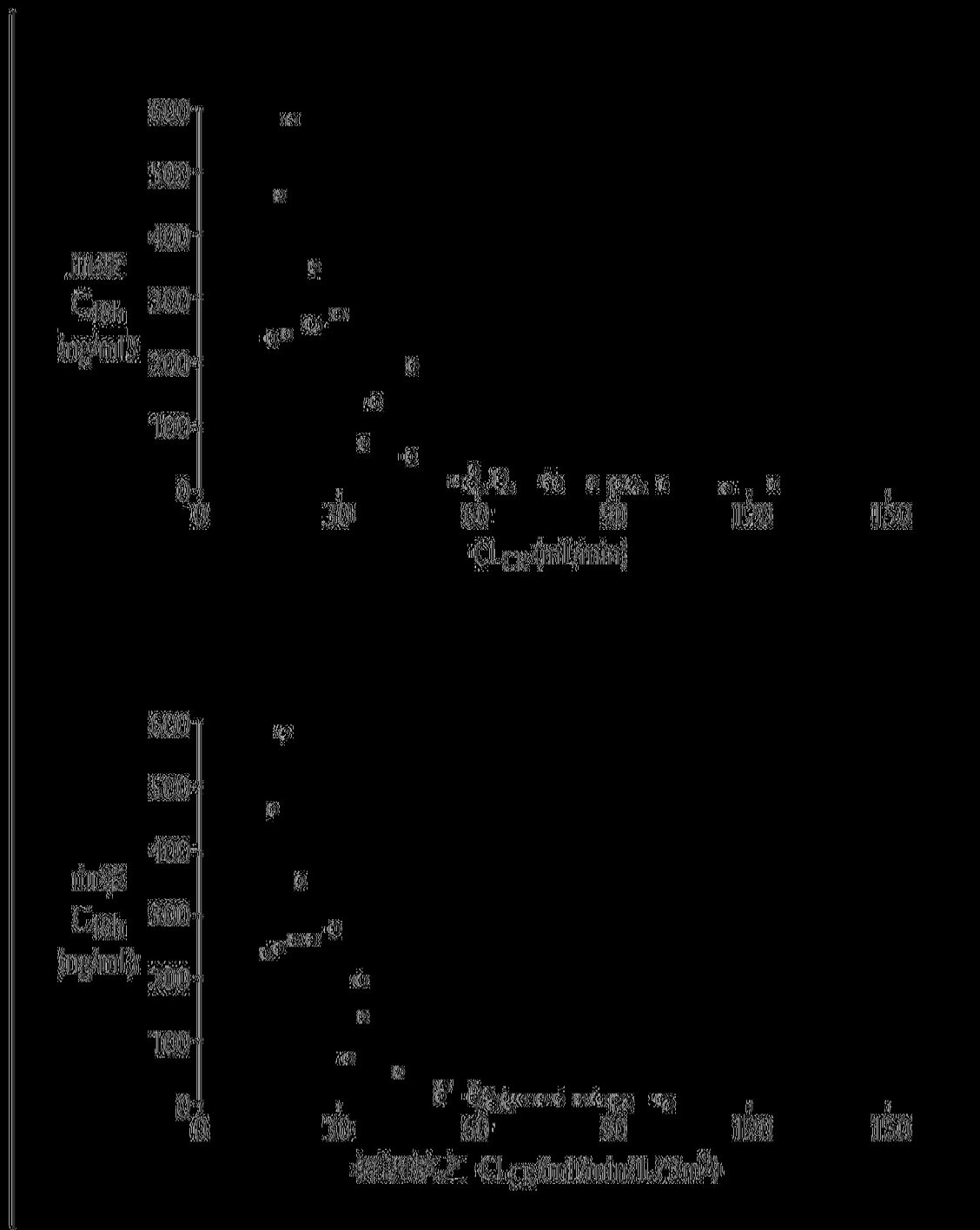


圖 1A

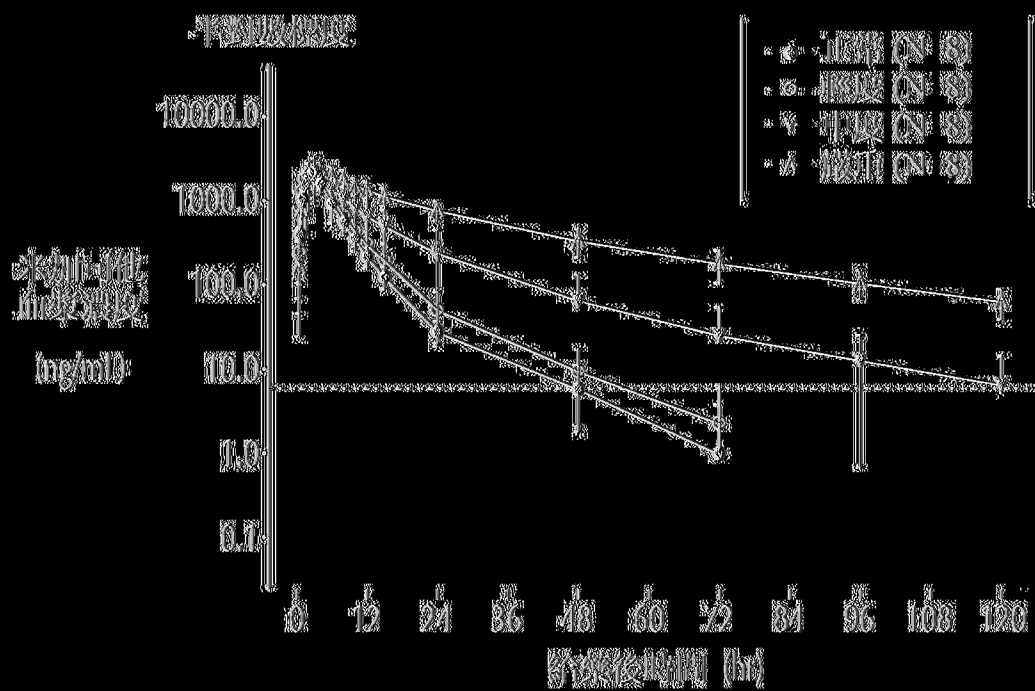


圖 1B

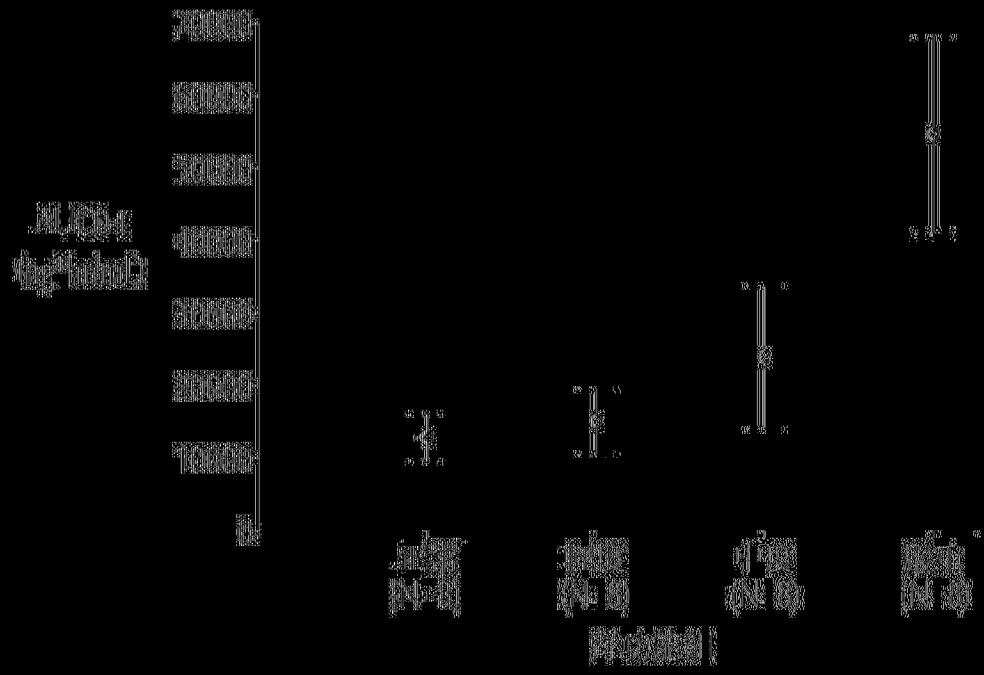


圖 1C



圖 1

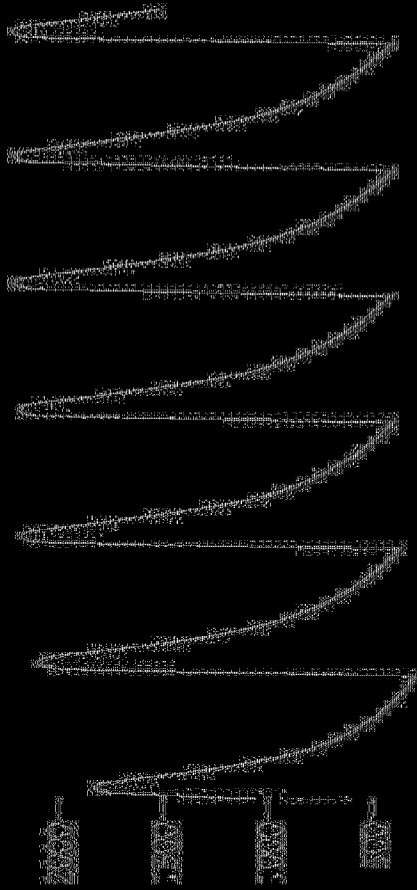
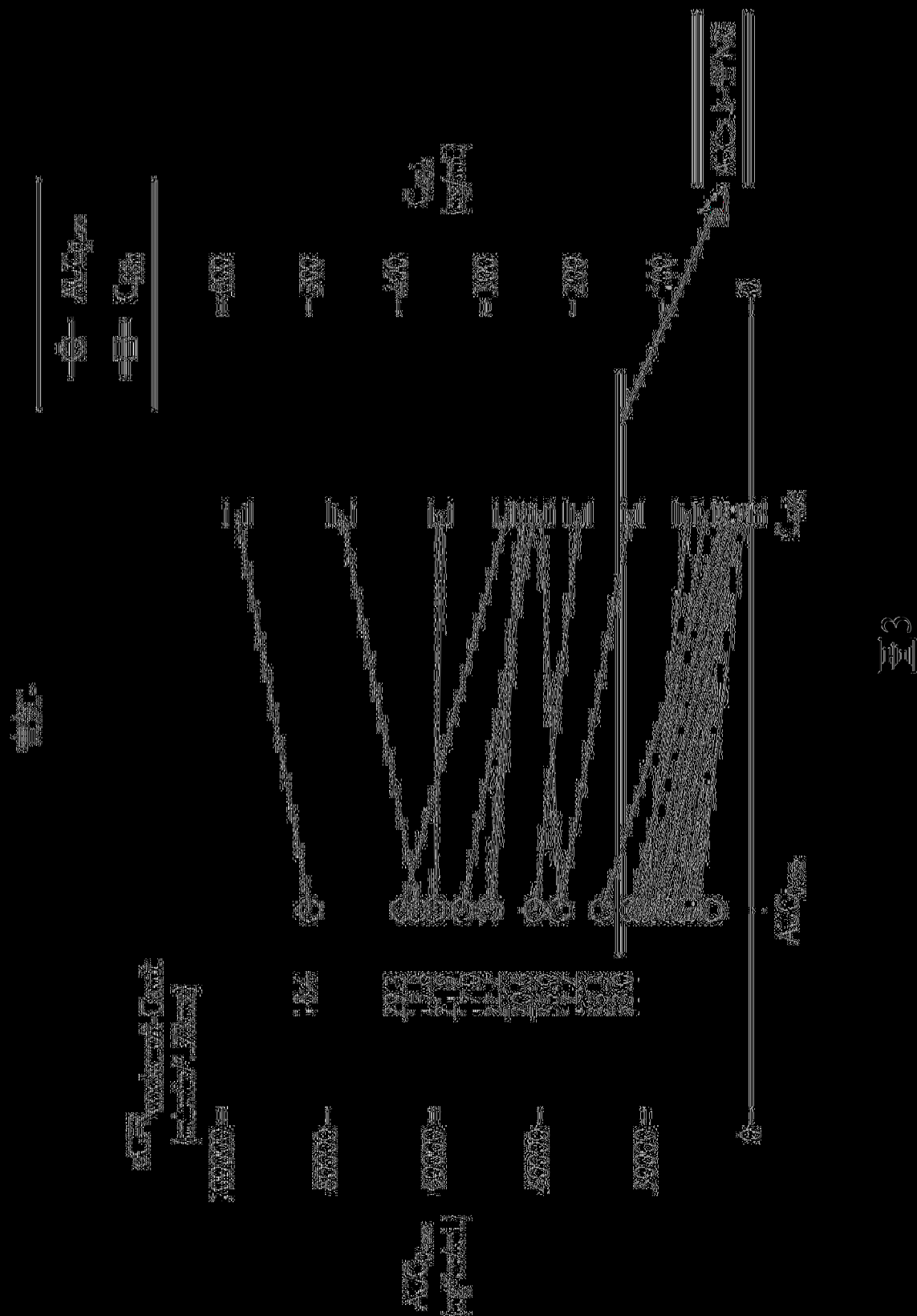
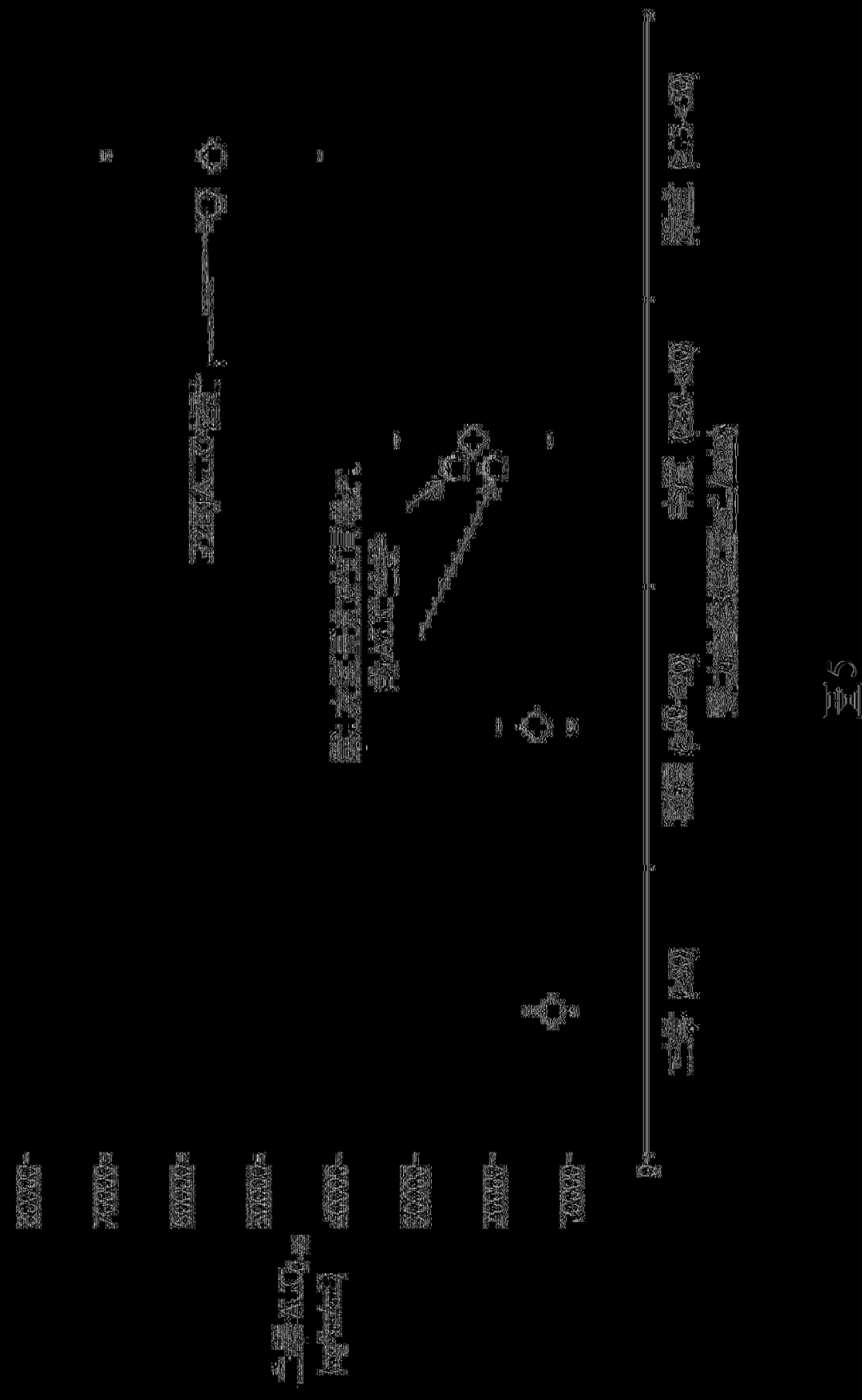


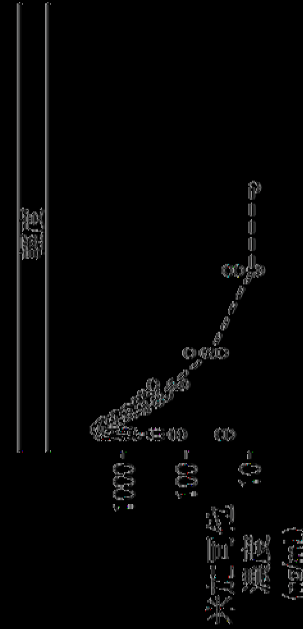
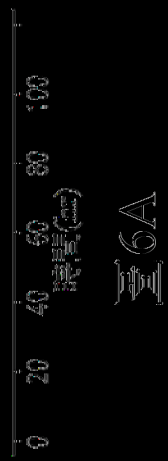
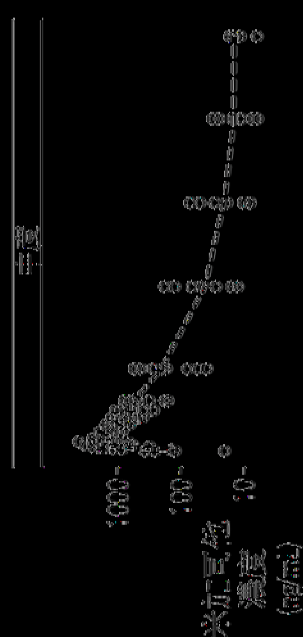
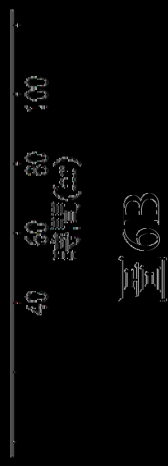
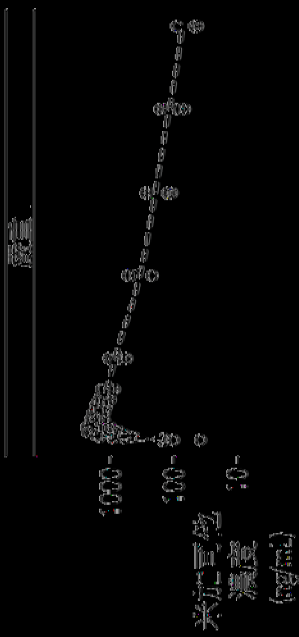
圖 2

圖 2









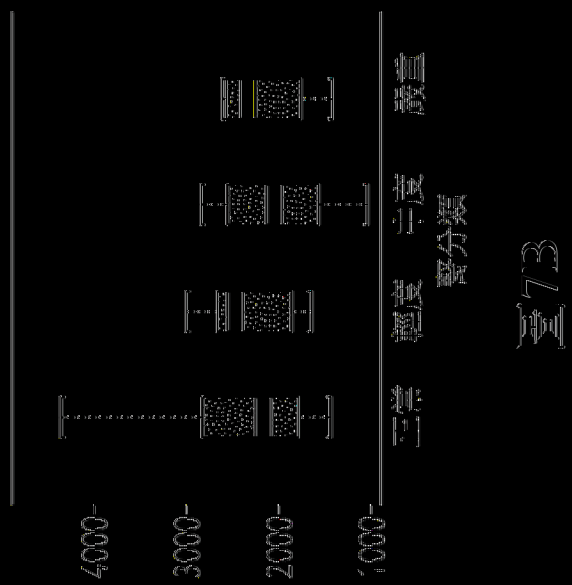


圖7B

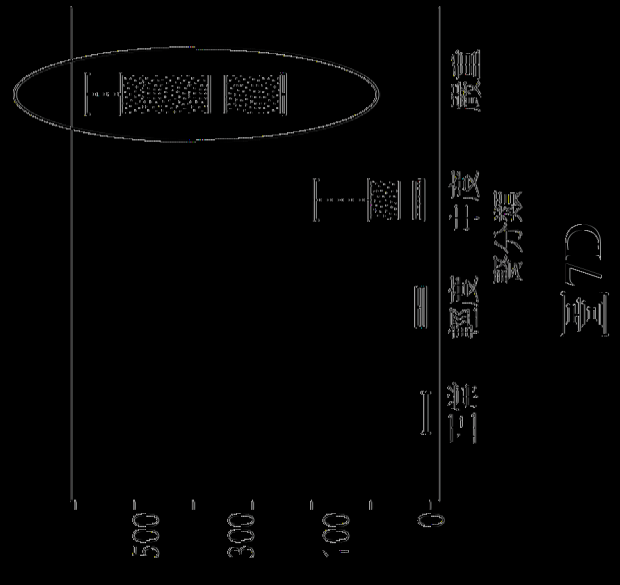


圖7D

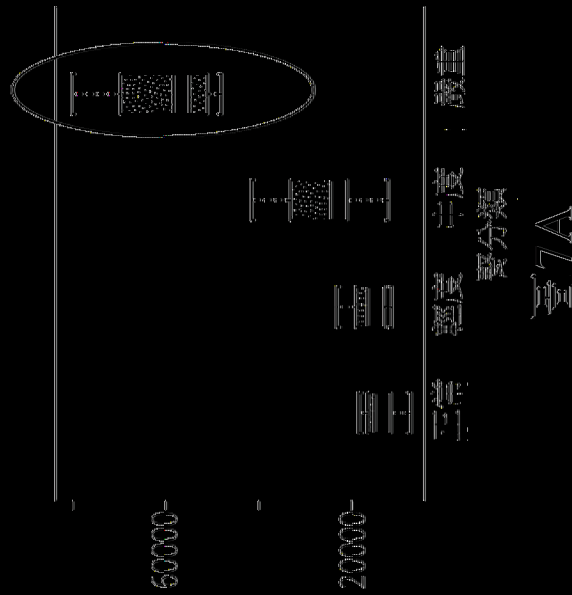


圖7A

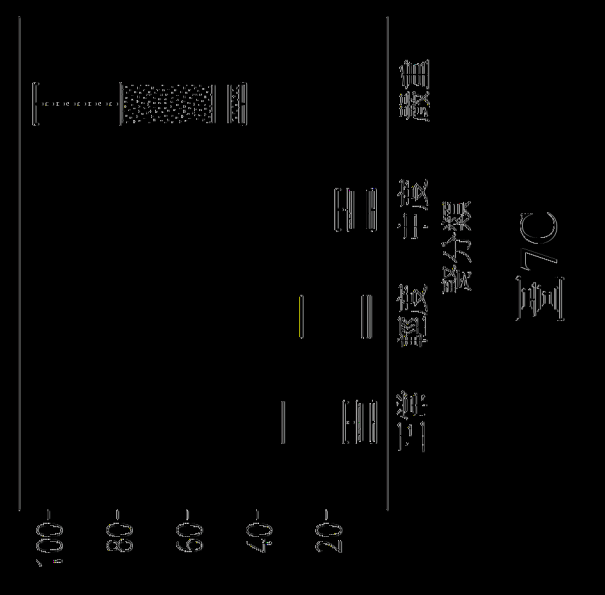


圖7C



圖 8B

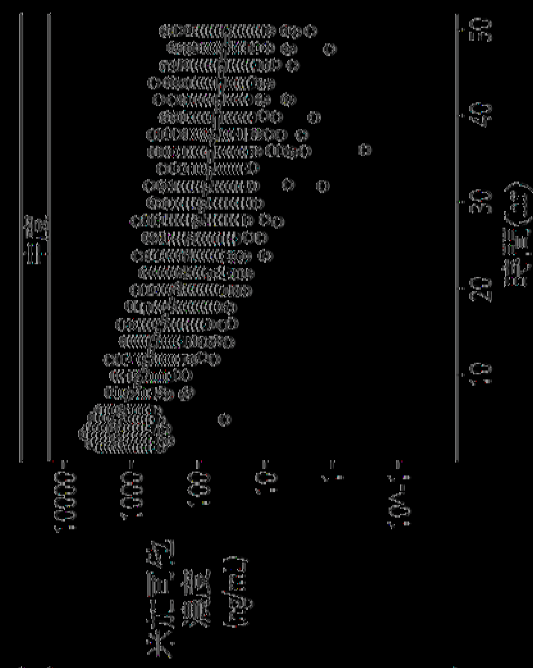


圖 8C



圖 8A

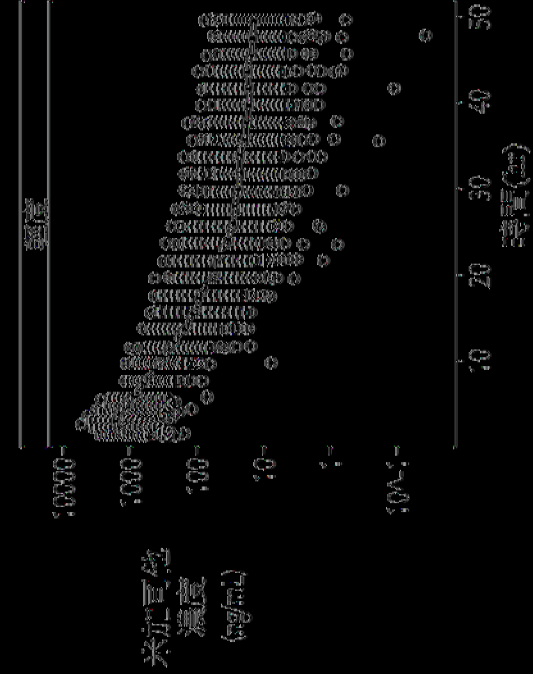


圖 8D

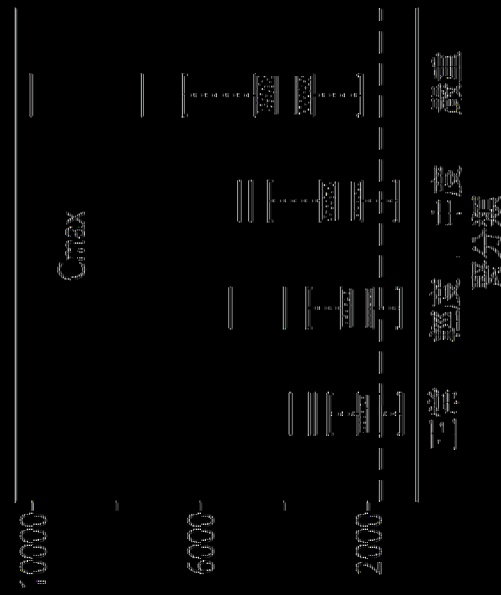


圖9B

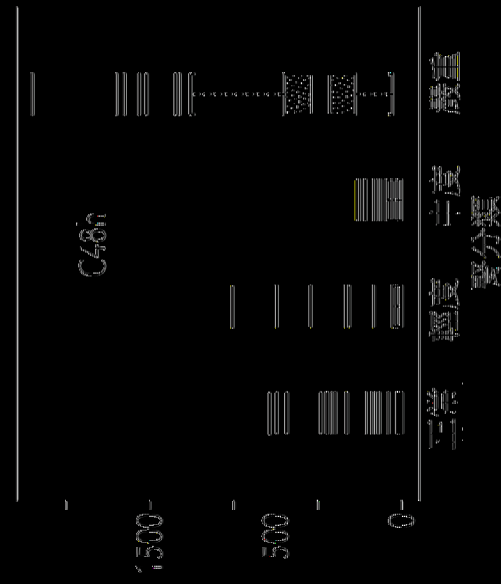


圖9C

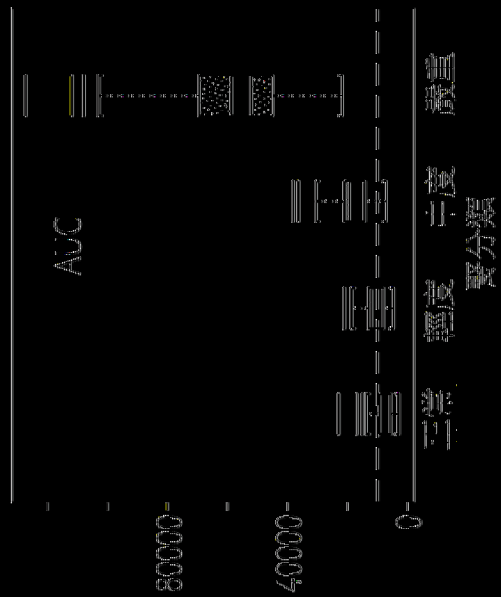


圖9A

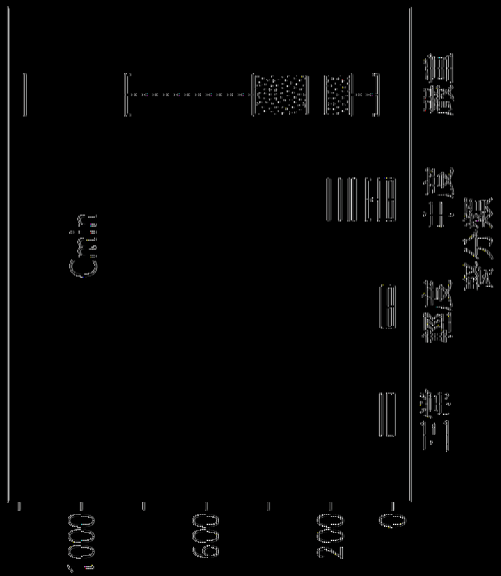


圖9D

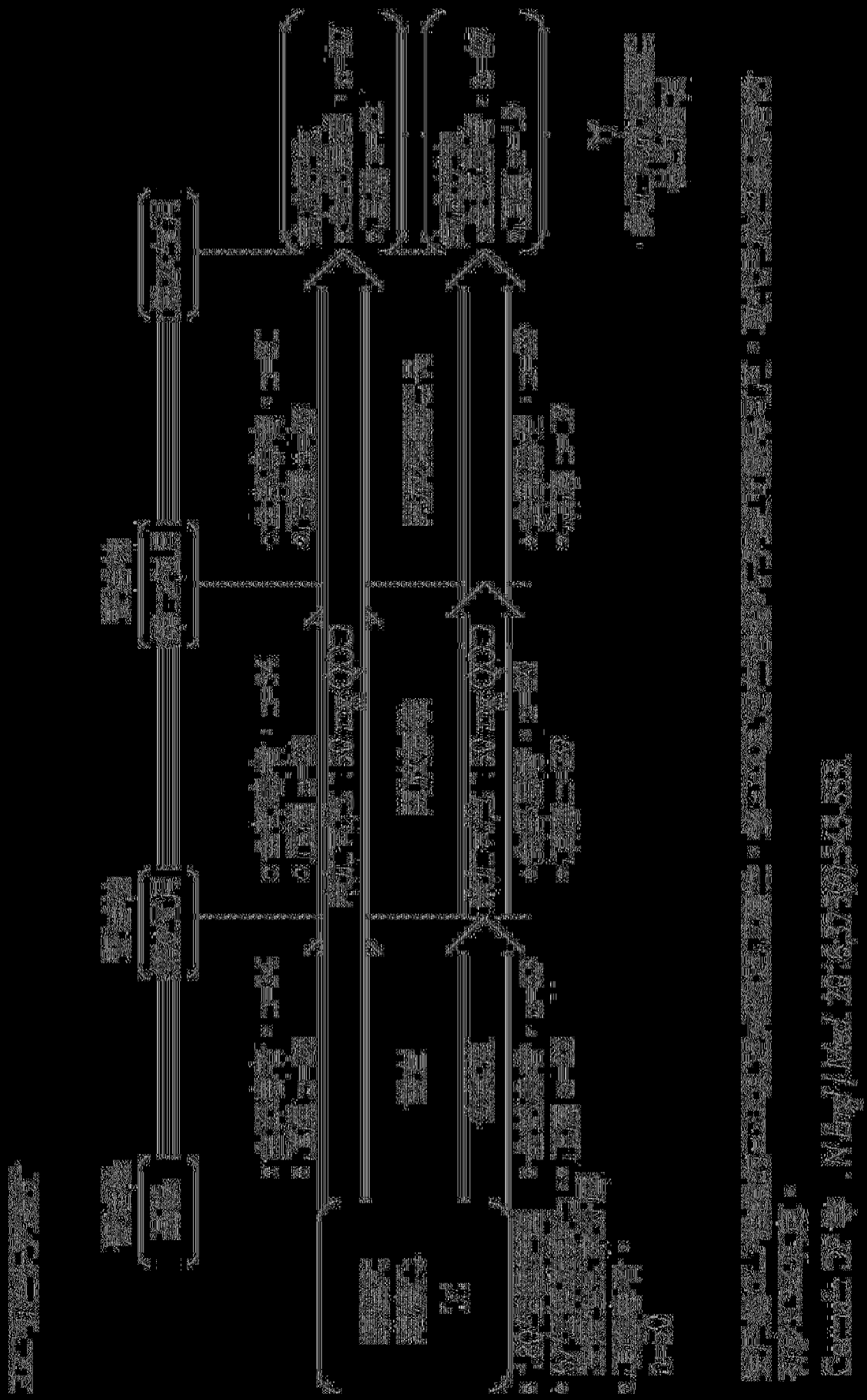


圖 10A

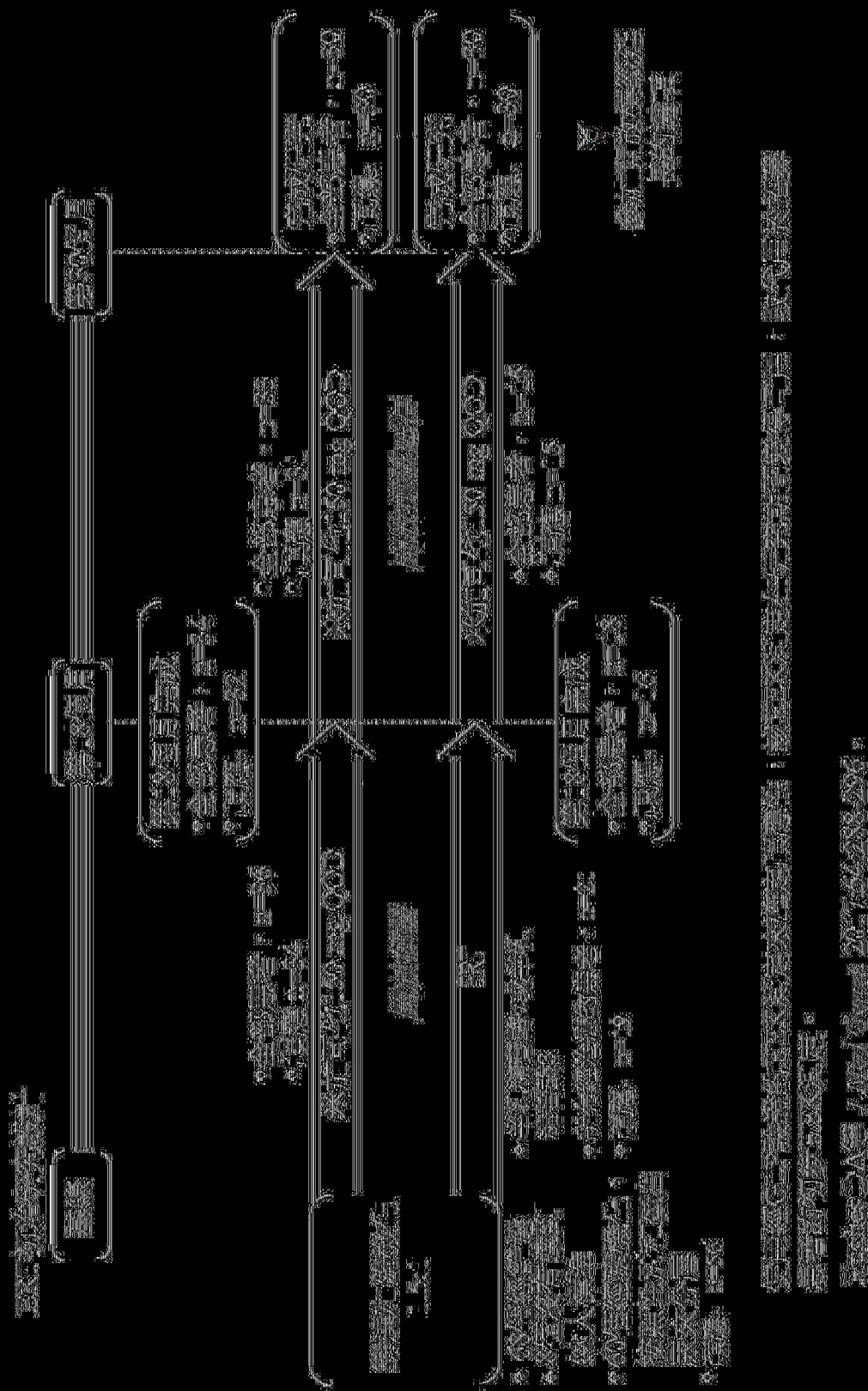
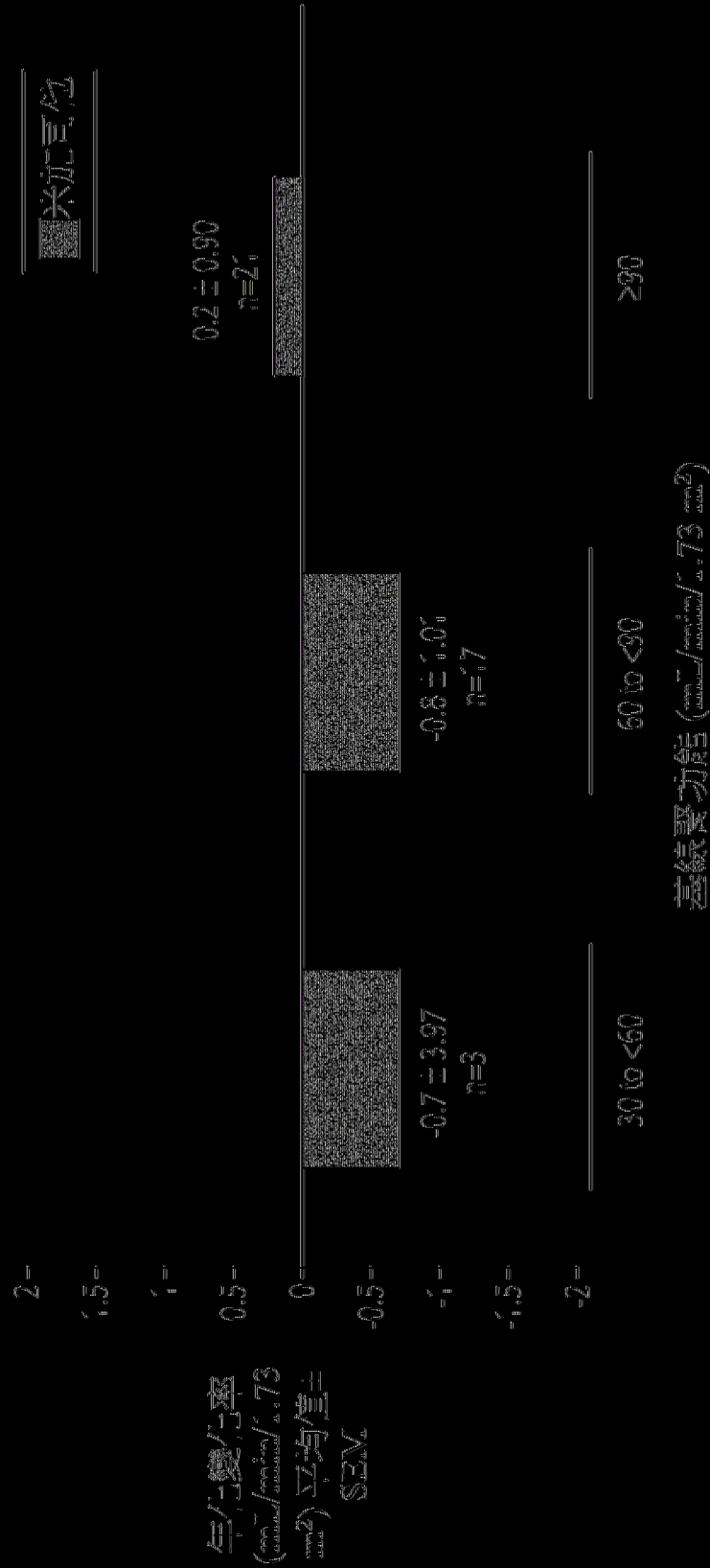
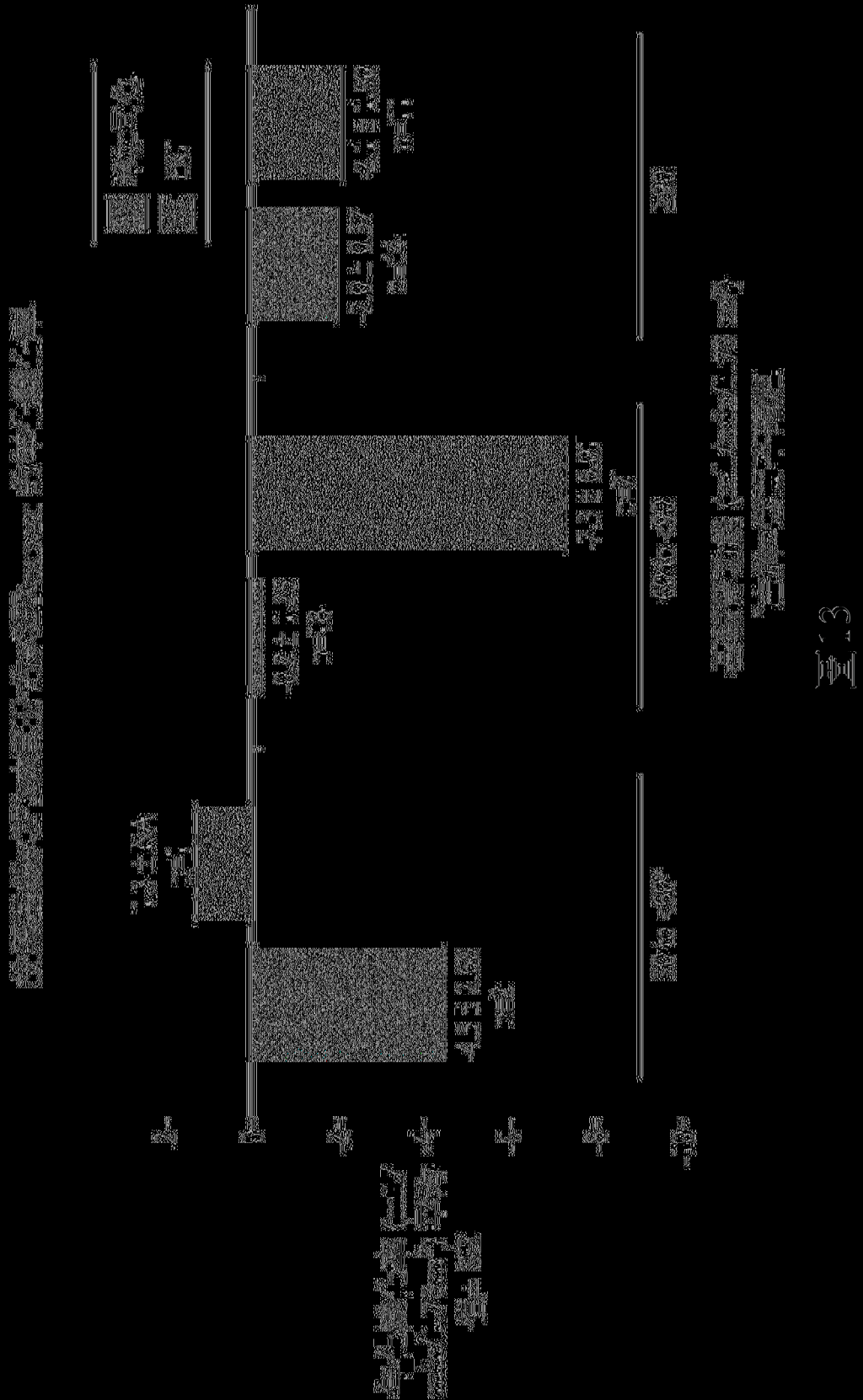


圖 03

無論基線eCER如何，米加司他使腎功能穩定(具有預應突變的患者)

按照基線eCER分組的eCER_{0-24h}的年化變比率





tctatcaacagtccttccaccaglatctctaaaatalctccctgaatcagcccacttccctt	8700
ccatcttcaclacatgcaccctggccttccaagclactatcggctctcaaccagactgct	8760
gggaccacctgatctctctgcttccactctgtctcaacccccatctatitlccaagcagc	8820
actlagagtlatcalatlaaaaatglaaatalcagllllllllltaagaaaaaaccttga	8880
gacttaacagagtlataaaaaalataaaatgtcalcatcagttccctgcttaaaacctta	8940
actcgcttccaatlgcacttgggaatgaaaccaaactgcactgatccagcccttgcctgcc	9000
tccccaaagtcceaaggggtcatggctcttccctgggtacactggttttcttctgtccc	9060
tcaacactgcaagcctatlgctgccccagggccttctacacttggcttttttctgacctaga	9120
acagttcttccccaaagatlllllaaagggccgggctcccttaacatlgaaagtcgcagacca	9180
aacggccacatalgcagacagttcttctctaaactactttaaatalagccctctgttccattca	9240
ttcttcatcacatlaacctgtllaaatlltcttctcagagctccacactatllggaaglat	9300
ttgttgacttgttaccatgtctccccactagagtglaagtttcatgagggcagggacctt	9360
gtctgactttgactgtatctctcgcataatggttaaagtgttaaatagttatllatggaatg	9420
aatccctattatlccttcatlatactctgcaaaaatagttctlllllctcaacatcttaaac	9480
tgatatacccacctgacctatctacaaactllllllllggcgacagagttctcactgtcaccca	9540
ggctlagagtgagtgggccatctcggctcactgcaacctccgctccgggttlaagcg	9600
atctcttggctcagctcccagtagctgggatlatagggctgcgctaccacatctggct	9660
aatllttgtatlltttagtagagatggtttcccatgttggccagggcttctctcgaactcc	9720
tgacctcagatgatccacctgacctcggcctccccaaagtgctgggatlacaggcattgagcc	9780
accgtgccagcctctacaaaactlllllatlccatlaacaaactatagctgggatllaag	9840
ttttctlaaatacllgatggagtcctatglaatllllcgagctlllllaatlllactlaagacca	9900
ttttagttctgatllatagaaglaaaatlaacttlaagggatllcaagttatalggcctact	9960
cttgaagcaaaccttctlacagtgaaaaatcattalalaaggglltagacctcctlatggaga	10020
cgllcaatctglaaacctcaagagaaggctacaagtgccctcccttlaaacctgtlllcatctc	10080
acaaggatgttagtagaaaagtaaacagaaagagtcatalctgtlltccacagcccaattata	10140
cagaaaaccgacagtlactgcaatcacctggcgaaaatlltgcctgacatlgatgatccctgga	10200
aaagtataaagaglatcttggactggacatctlllaaccaggagagaattgttggatgttg	10260
ctggaccaggggttggaaatgaccagatalggllaaaaacttggacctccttgttcaag	10320
accttgcggtagggcttgttccatllttgacatlaaaggtaaatlacagglaaagttccctg	10380
ggaggaggctllatgtgagagtlactttagagcaggatgcttggaaagtggtlltctccata	10440
tgggtcatctaggtaacttlaagaatgtlltccctcctctcttggttgaaatlatllcatlct	10500
ttttctcagttagtgatlggcaacttggcctcagctggaaatcagcaagtaactcagatg	10560
gccctctgggctatcatggctgctccttlatlcatlgctlaaalgacctccgacacatcagc	10620
cctcaagccaaagctctccttcaggataaggagcglaatlgccatcaatcaggacccttgg	10680
ggcaagcaagggtlaccagcttagacaggtaaaataagaglatatallttaagalggctlla	10740
tatacccaataccaacttgtcttgggcctaaaactatlllllcccttgccttcatgtt	10800
tactatcaglaataaagcttcttggctagaacaatfacttlatllccaaaaataalgctaca	10860
ggatcatllltaatlllccctacaagtgcttggatagttcttgacatlaagaaatgaaatgccaa	10920
actaacagggccacttatacactagttgcttaagcaaccacacttcttggttlllccagggga	10980
gacaactllgaaatgtgggaacgacctctctcaggcttagcctgggctgtagctatgata	11040
aaccggcaggagattgggtggacctcgcctctataccatcgcagttgcttccctgggtaaa	11100
ggagtggcctgtlaatccctggctgcttcatcacacagctcctccctgtgaaaaggaagcta	11160
gggttctatgaaatggacttcaaggtlaagaagtcacataaaatcccacaggcactgtlltg	11220
cttcagctagaaaaatacaatgcagatgtcatltaaaagacttacttlaaaatgttlatlll	11280
atlgccaactactacttccctgtccacctlllltccattcacttlaaaagctcaaggcta	11340
ggltggctcatgcttgaatcccagcacttggggaggctgaggggggcagatcacctgagg	11400
tggggacttggagaccgctggacaacatgggtgaaacccccatlltctaataaaaaataaa	11460
aaatlagccaggltgtgggtggcgacctgtgggtcccagctactctgggggctgagggcatga	11520

圖 14D

gaatcgcttgaacccgggagtgagggttgcattgagctgagatcatgccacctcactcca	11580
gcctgggcaacaaagattccatctcaaaaaaaaaaaaaaaaaagccaggcacagtggtcatg	11640
cctggaatcccagcacttttgggaagctgaggcaggcagatcacttgagggtaggatttca	11700
agaccagcctggctaacaatagtaaagccctgtctctactaaaaatacaaaaatlagccag	11760
gtatgggtggcgagcttctgtagccccagctactcaggagactgaggcaggagaatcactt	11820
gaacccgggaagtggggggggtgcagtgacccaagatcacgccactgcatlccagcctggg	11880
caacagagcaagactccatctcaaaaaaaaaaagttctatttccitgaalaaaaatttccg	11940
aagttttaaacttttaggaataaaaactatataaacccgtatttactcatccagataccaccc	12000
cccttgttggagattctctcccaattatcaaaaatgtgttagcatatitaaactaccaagagct	12060
aaacatcattaaagactgaaatgtatlaagaaggatgtataggccaggcacgggtgtctcac	12120
gcctgtaatcccaacactttgggaggccaagtcggggcggatcacgaggtcaggagatgga	12180
gaccalcctggccaacatgggtgaaacccccctctctactaaaaatacaaaaatlagccagg	12240
cagggtggcaggcacctglaatcccagctactccagaggctgaggcaggacaatcacttga	12300
acctgggaggcagaggctgcagtgagctgagggttgtaccaattgcactccagcctaggtt	12360
acgagcaacactccatctcaaaaaaagaaaaaaaaaagatgtataatttgggaactgtta	12420
agaggcatlllaaga	12436

[14]

MQJRNPKJLJL	GCATAJJBJTA	JVSWJDPGAR	ATJNGLJRNJ	JMGWJLWJRI	MCNJDCQJWJ	60
DSCTSKKJLM	JMAKJMVSKG	WKDAGYKYJC	JDDCWMJQR	DSHGRTQAJD	QRJYJGTRQJ	120
ANYVHSKJLX	JGTYADVGNK	JCAGJPGSJE	YYJDDAQJJA	JMGVDJJKJD	GCYCDSTJNJ	180
ADGYKJMSJA	JNRJGRSJVY	SCJWJYJMWJ	JQKJNYJJKR	QYCJNWRNJJA	JDDDSWKSJK	240
STJJDWJSTJNQ	JRJVJYVJGJG	GWNJNJKMJVJ	GNJGJLJSWJQQ	VJQMAJWJAJM	AAJYJMSNJNJ	300
RJJSJQAKAJ	JQKJYVJAJN	QJYJGKQGYQ	JRQGDJNJYVW	JRJYJSGJAWA	VAMJNRQJGJG	360
GPRSYJTAJVA	STGKGVACNJ	ACJYJQJYJY	KRJKJGJYJWJ	SJYJRSJYJNJ	GTVJYQJYJNJ	420
MQMSJYJYJ						429

圖15