



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I791040 B

(45)公告日：中華民國 112 (2023) 年 02 月 01 日

(21)申請案號：107129257

(22)申請日：中華民國 107 (2018) 年 08 月 22 日

(51)Int. Cl. : A61K38/46 (2006.01)

A61P19/10 (2006.01)

(30)優先權：2017/08/24 美國

62/549,732

2017/12/07 歐洲專利局

17306720.8

(71)申請人：法商賽諾菲公司 (法國) SANOFI (FR)

法國

(72)發明人：莎伊特 普嘉 安娜 SCHEIDT-PUGA, ANA CRISTINA (BR)

(74)代理人：陳彥希；何愛文

(56)參考文獻：

WO 2011/025996A2

期刊 Wasserstein MP, et al. "Successful within-patient dose escalation of olipudase alfa in acid sphingomyelinase deficiency" Molecular Genetics and Metabolism 116(1): Esevier 2015; 88-97

審查人員：楊婷雅

申請專利範圍項數：28 項 圖式數：4 共 50 頁

(54)名稱

酸性神經髓磷脂酶缺乏症病患異常骨狀況之治療

(57)摘要

本發明提供將人類酸性神經髓磷脂酶(例如奧利普酶 α)用於在 ASMD 患者中治療異常骨狀況，如 ASMD 患者中出現的低骨密度、高骨髓負荷和其他骨骼異常的方法。

The invention provides methods of using a human acid sphingomyelinase (e.g., olipudase alfa) in treating an abnormal bone condition in ASMD patients such as low bone density, high bone marrow burden, and other skeletal abnormalities presented in ASMD patients.

指定代表圖：

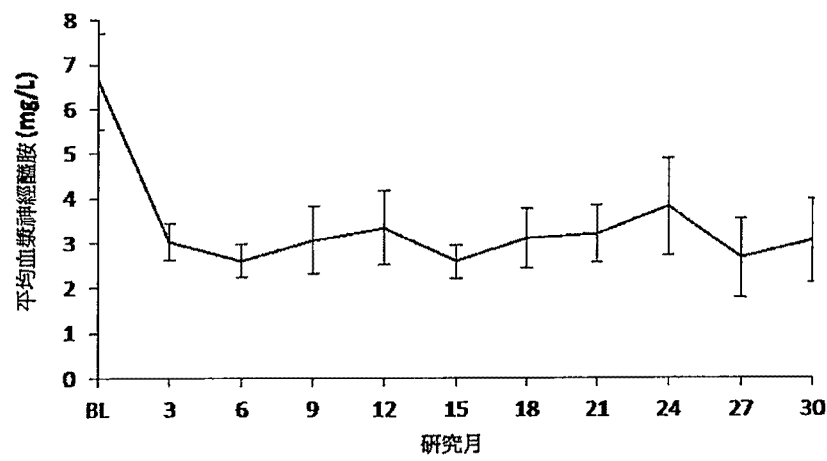


圖 1A

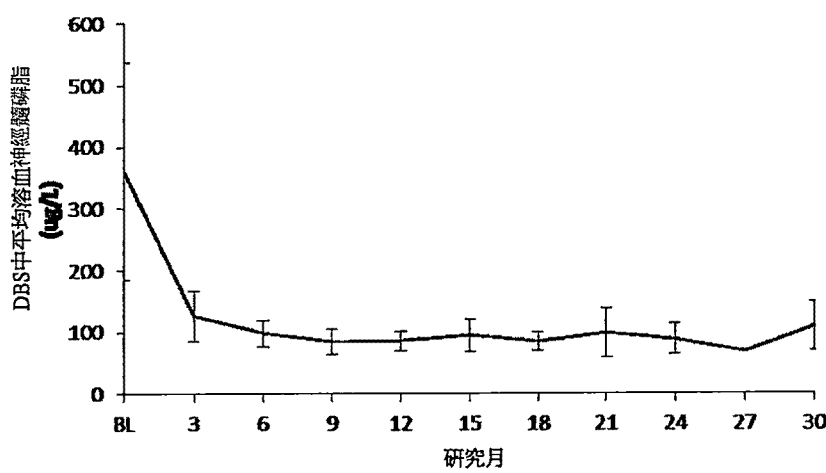


圖 1B

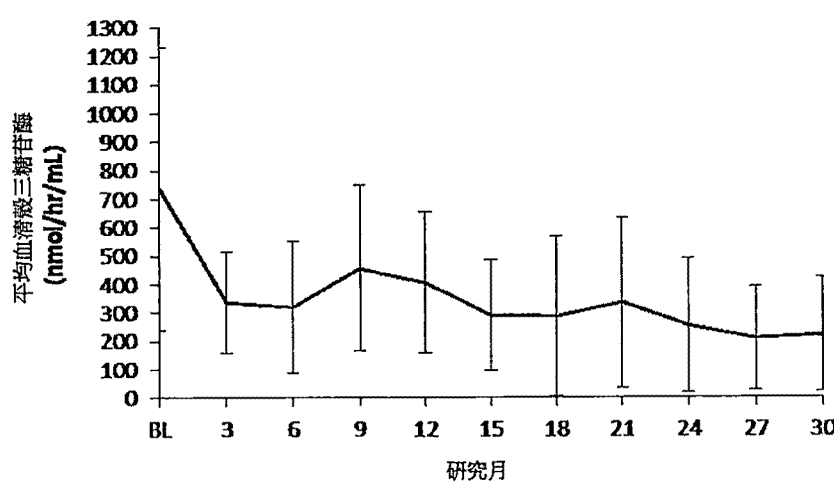


圖 1C

I791040

發明摘要

【發明名稱】

酸性神經髓磷脂酶缺乏症病患異常骨狀況之治療

TREATMENT OF ABNORMAL BONE CONDITIONS IN ACID
SPHINGOMYELINASE DEFICIENCY PATIENTS

【中文】

本發明提供將人類酸性神經髓磷脂酶(例如奧利普酶 α)用於在ASMD患者中治療異常骨狀況，如ASMD患者中出現的低骨密度、高骨髓負荷和其他骨骼異常的方法。

【英文】

The invention provides methods of using a human acid sphingomyelinase (e.g., olipudase alfa) in treating an abnormal bone condition in ASMD patients such as low bone density, high bone marrow burden, and other skeletal abnormalities presented in ASMD patients.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：圖1A-1C

【本代表圖之符號簡單說明】：無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

酸性神經髓磷脂酶缺乏症病患異常骨狀況之治療

TREATMENT OF ABNORMAL BONE CONDITIONS IN ACID
SPHINGOMYELINASE DEFICIENCY PATIENTS

【技術領域】

【0001】 本申請涉及人類酸性神經髓磷脂酶在患有酸性神經髓磷脂酶缺乏症(ASMD)的患者中治療異常骨狀況的用途。

【先前技術】

【0002】 酸性神經髓磷脂酶缺乏症(ASMD)是一種罕見的危及生命的溶酶體貯積症。它是由編碼溶酶體酶酸性神經髓磷脂酶(ASM)的 SMPD1 基因中的突變引起的常染色體隱性遺傳疾病(Schuchman等, Mol. Genet. Metab. 120(1-2):27-33 (2017))。ASMD患者不能代謝神經髓磷脂，結果神經髓磷脂在多個器官中的溶酶體中積累，在嚴重的情況下引起內臟疾病和神經變性。ASMD患者在脾、肝、肺和骨髓中具有增加的膽固醇和其他脂質。

【0003】 嬰兒腦脊髓交感神經系統的ASMD (歷史上稱為A型尼曼-皮克病或NPD A)是最嚴重的疾病表型，其特徵在於早發和急性神經病變形式，並導致不能生長發育、肝脾大和快速進展性神經變性。患者在幼兒時期死亡(McGovern等, Neurology 66(2):228-232 (2006))。患有慢性內臟ASMD (NPD B)和慢性腦脊髓交感神經系統的ASMD (NPD A/B)的患者具有從嬰兒期到成年期變化的發病(Wasserstein等, Pediatrics 114(6):e672-677 (2004); Wasserstein等, J. Pediatr. 149(4):554-559 (2006))。NPD B患者通常在兒童期得以診斷，通常在2歲之後。大多數NPD B患者都活到成年期。NPD A/B患者被歸類為具有中間形式，具有可發展為神經退行性疾病的兒童神經症狀的表現。

【0004】 患有慢性ASMD的所有患者中出現來自肝、肺和血液疾病的患病，並包括肝脾大、肝功能障礙、浸潤性肺病和血小板減少(McGovern等, Genet. Med. 15(8):618-623 (2013); McGovern等, Orphanet J. Rare Dis. 12(1):41 (2017))。兒童時期的生長受限和骨病症如低骨密度也是慢性ASMD的常見特徵(Wasserstein等, J. Pediatr. 142(4):424-428 (2003))。肺病和肝病是這些患者死亡的主要原因(McGovern等, Pediatrics 122(2):e341-349 (2008); Cassiman等, Mol. Genet. Metab. 118(3):206-213 (2016))。

【0005】 由於ASMD的高發病和死亡率，仍然迫切需要這種遺傳疾病的有效治療。

【發明內容】

【0006】 本發明提供了一種治療患有酸性神經髓磷脂酶缺乏症(ASMD)的患者中的異常骨狀況的方法，其包括如下步驟：向該患者投予多個劑量的重組人類酸性神經髓磷脂酶(rhASM)，測量該患者的骨指標，和將該患者的所述骨指標與該患者在投予步驟之前的基線骨指標進行比較，其中在所述多個劑量的rhASM之後該患者的所述骨指標改善或沒有惡化。在一些實施例中，骨指標是骨礦物質密度(BMD)，其中所述BMD在所述多個劑量的rhASM之後改善(例如，增加)或不惡化。在一些實施例中，骨指標是骨髓負擔(BMB)，其中所述BMB在所述多個劑量的rhASM之後減少或沒有增加。在一些實施例中，骨指標是骨骼發育(例如，骨成熟和/或線性生長)，其中所述骨骼發育在所述多個劑量的rhASM之後改善。在一些實施例中，所述異常骨狀況是骨量稀少或骨質疏鬆症。

【0007】 本發明還提供用於在有其需要的酸性神經髓磷脂酶缺乏症患者中減少骨髓負擔(BMB)的方法，其包括如下步驟：確定所述患者的BMB，和向所述患者投予多個劑量的重組人類酸性神經髓磷脂酶(rhASM)，從而減少所述患者的BMB。

【0008】 本發明還提供用於在有其需要的酸性神經髓磷脂酶缺乏症患者中改善骨礦物質密度(BMD)的方法，其包括如下步驟：確定所述

患者的BMD，和向所述患者投予多個劑量的重組人類酸性神經髓磷脂酶(rhASM)，從而改善所述患者的BMD。

【0009】 本發明還提供用於在有其需要的酸性神經髓磷脂酶缺乏症患者中減少骨髓負擔(BMB)的方法，其包括如下步驟：選擇患有酸性神經髓磷脂酶缺乏症的患者，其沒有正在接受雙膦酸鹽治療，和向所述患者投予多個劑量的重組人類酸性神經髓磷脂酶(rhASM)，從而減少所述患者的BMB。

【0010】 本發明還提供用於在有其需要的酸性神經髓磷脂酶缺乏症患者中改善(例如，增加)骨礦物質密度(BMD)的方法，其包括如下步驟：選擇患有酸性神經髓磷脂酶缺乏症的患者，其沒有正在接受雙膦酸鹽治療，和向所述患者投予多個劑量的重組人類酸性神經髓磷脂酶(rhASM)，從而改善所述患者的BMD。

【0011】 本發明還提供在有其需要的酸性神經髓磷脂酶缺乏症(ASMD)患者中改善骨骼發育(例如，骨成熟和/或線性生長)的方法，其包括如下步驟：選擇用於改善骨骼發育的ASMD患者，和向所述患者投予多個劑量的重組人類酸性神經髓磷脂酶(rhASM)，從而改善所述患者的骨骼發育。

【0012】 本發明還提供在有其需要的酸性神經髓磷脂酶缺乏症(ASMD)患者中改善或維持生活品質的方法，其包括如下步驟：選擇用於改善生活品質的ASMD患者，和向所述患者投予多個劑量的重組人類酸性神經髓磷脂酶(rhASM)，從而在所述患者中改善或維持生活品質。

【0013】 本發明還提供在有其需要的酸性神經髓磷脂酶缺乏症(ASMD)患者中治療骨量稀少的方法，其包括如下步驟：選擇用於治療骨量稀少的ASMD患者，和向所述患者投予多個劑量的重組人類酸性神經髓磷脂酶(rhASM)。

【0014】 本發明還提供在有其需要的酸性神經髓磷脂酶缺乏症(ASMD)患者中治療骨質疏鬆症的方法，其包括如下步驟：選擇用於治療骨質疏鬆症的ASMD患者，和向所述患者投予多個劑量的重組人類酸性神經髓磷脂酶(rhASM)。

【0015】 在本文所述的任何治療方法中，多個劑量可在六到三十個月的時間投予於所述患者。因此，rhASM多劑量的所述效果在所述時間中獲得。

【0016】 在本文所述的任何治療方法中，所述患者可患有，例如，慢性內臟ASMD (B型尼曼-皮克病)或慢性腦脊髓交感神經系統的ASMD (NPD A/B)。所述患者可為成年或兒科的患者。

【0017】 在本文所述的任何治療方法中，前兩劑或更多劑rhASM可為遞增劑量並可以連續增加的量投予。在一些實施例中，在遞增劑量後的劑量是維持劑量(其可以例如最高維持劑量開始)並可以與最後遞增劑量相同或少於最後遞增劑量的量投予。在一些實施例中，最高維持劑量是患者所耐受的最高劑量。對於成年或兒科的患者，第一劑量可為例如0.1 mg/kg。最高維持劑量可為例如0.3 mg/kg至3 mg/kg (例如，1 mg/kg至3 mg/kg)，如1 mg/kg、2 mg/kg或3 mg/kg的量。維持劑量可為，例如，0.1 mg/kg至3 mg/kg或0.3 mg/kg至3 mg/kg，如例如0.1 mg/kg、0.2 mg/kg、0.3 mg/kg、0.4 mg/kg、0.5 mg/kg、0.6 mg/kg、0.7 mg/kg、0.8 mg/kg、0.9 mg/kg、1 mg/kg、1.5 mg/kg、2 mg/kg、2.5 mg/kg或3 mg/kg的量。在具體的實施例中，遞增劑量可以0.1 mg/kg、0.3 mg/kg、0.3 mg/kg、0.6 mg/kg、0.6 mg/kg、1.0 mg/kg、2.0 mg/kg和3.0 mg/kg的順序投予。

【0018】 在一些實施例中，本文所述的任何治療方法中的多個劑量以每2週的間隔投予。多個劑量的投予可例如通過靜脈注射。

【0019】 在本文所述的任何治療方法中，rhASM可為奧利普酶 α (olipudase alfa) (SEQ ID NO: 2)。

【0020】 本發明還提供重組人類ASM (例如，奧利普酶 α)在製備用於本文所述的任何治療方法的藥物中的用途，以及提供重組人類ASM (例如，奧利普酶 α)用於本文所述的任何治療方法的用途。

【0021】 本發明還提供含有重組人類ASM (例如，奧利普酶 α)的製品(例如，套組)，其用於本文所述的任何治療方法。

【圖式簡單說明】

【0022】 圖1A-C是總結在用奧利普酶 α 治療30個月期間神經醯胺(A)、溶血-神經髓磷脂(B)和殼三糖苷酶(C)活性的變化的圖。血漿神經醯胺的正常範圍為1.8-6.5 mg/L。幹血斑中溶血-神經髓磷脂的正常上限為 $< 69 \mu\text{g/L}$ ，而正常殼三糖苷酶血清水平為 $\leq 181 \text{ nmol/hr/mL}$ (注意：對於兩位就殼三糖苷酶無效突變而言為雜合的患者未校正活性)。

【0023】 圖2A和2B是總結奧利普酶 α 對肝臟和脾臟體積(A)和肺部疾病(B)的影響的圖。圖2A：通過積分橫截面磁共振圖像計算肝臟和脾臟體積，並表示為正常的倍數(MN)，其中正常脾臟體積(L)被假定為體重的0.2%，而正常肝臟體積(L)為體重的2.5%。圖2B：肺病。使用對於男性和女性患者觀察到的值計算患者百分比預測的DLco，其在基線時和治療期間對於血紅蛋白(Hb)進行調整(Crapo等, *Am. Rev. Respir. Dis.* 123(2):185-189 (1981); Macintyre 等, *Eur. Respir. J.* 26(4):720-735 (2005))。嚴重程度：80% = 正常的下限； $>60\%-79\%$ = 輕微減少； $40\%-60\%$ = 中度減少； $<40\%$ = 嚴重減少。在基線時和用奧利普酶 α 治療期間浸潤性肺病的HRCT評估包括在4點系統上計分的毛玻璃外觀(GGA)、間質性肺病(ILD)和網狀結節密度(RD)，其中0 = 無間質性肺病；1 = 輕度(影響肺體積的1-25%)；2 = 中等(影響肺體積的26-50%)；3 = 嚴重(影響肺體積的51-100%)。

【0024】 圖3A和3B是描述奧利普酶 α 對骨髓負擔的影響的照片。圖3A (股骨)：患者2 (女性，基線時32歲)的冠狀股骨中的骨髓負擔變化。將T1加權(A)和T2加權(B)圖像中在篩選時的近端骨骺骨髓低強度與治療30個月後的減少量和輕度低強度骨幹骨髓進行比較(T1加權C和T2加權D)。全垂直標度條，20 cm。圖3B (脊柱)：患者2的矢狀腰椎中的骨髓負擔。在篩選時，以非病變椎間盤的T1加權的等密度(A)和骶骨前脂肪的T2加權的高強度信號強度(B)觀察到骨髓的彌漫性浸潤。在30個月治療後，骨髓浸潤保持不變(T1加權，C)，而骶骨前脂肪改善至略微高強度(T2加權，D)。全垂直標度條，20 cm。

【0025】 圖4A-D是描繪在基線時和用奧利普酶 α 治療期間(30個月)空腹脂質參數的圖。顯示了總膽固醇(A)、甘油三酯(B)、HDL膽固醇

(C)和LDL膽固醇(D)的平均(SD)輸注前空腹水平。總膽固醇正常範圍：美國<5.18 mmol/L；英國0-3.9 mmol/L。HDL-C正常範圍：美國男性>0.777；美國女性>0.9065 mmol/L；英國>1.2 mmol/L。LDL-C正常範圍：美國<3.3411 mmol/L；英國0-2 mmol/L。甘油三酯正常範圍：<1.7 mmol/L。

【實施方式】

【0026】 本發明基於ASM酶替代療法(ERT)減輕ASMD患者中的異常骨狀況，包括增加他們的骨密度和降低他們的骨髓負擔的發現。這種改善可在治療的少至6-30個月內看到。此發現是預料不到的，因為不清楚ASM ERT是否會逆轉ASMD的所有症狀，包括低骨密度，和如果是這樣的話，治療會花費多長時間以實現症狀的逆轉。在其他脂質貯積病症中，單獨的ERT在改善骨礦物質密度方面非常緩慢。例如，在另一種遺傳性脂質貯積病症戈謝病(Gaucher Disease)中，患者對用ERT治療的反應對於骨礦物質密度(BMD)比對GD的血液和內臟方面更慢。研究已顯示，需要8年的ERT (imiglucerase (伊米昔酶))以使患者的BMD恢復到正常水平(Wenstrup等, *J Bone Miner Res.* 22(1):119-26 (2007))。本發現也是重要的，因為ASMD患者在進行ASM ERT時不能服用雙膦酸鹽(對於低BMD的照護標準藥物)，因為雙膦酸鹽會干擾ASM活性。

【0027】 因此，本發明提供了使用ASM ERT治療ASMD患者中的異常骨狀況的方法。ASMD引起骨髓細胞，特別是單核-巨噬細胞譜系的前體細胞中神經髓磷脂的積累。這些細胞變得充盈並被困在骨髓中，引起骨髓浸潤和高骨髓負擔(BMB)。ASMD患者也常常患有慢性炎症，包括骨中的慢性炎症。ASMD中的骨病不利地影響骨代謝和結構。患者罹患多個症狀，包括生長延遲、生長遲緩、成熟延遲、骨痛和骨折。事實上，已顯示ASMD與腰椎骨礦物質密度(BMD) Z-分數呈負相關(Wasserstein等 *J. Inherit. Metab. Dis.* 36(1):123-7 (2013))並影響骨骼系統。如本文所用，異常骨狀況或骨疾病指與ASMD相關的任何骨問題以及所產生的表現，如高骨髓負擔、低骨礦物質密度、骨量稀

少、骨質疏鬆症、骨骼發育延遲(例如，骨齡(成熟)延遲和線性生長延遲)、殘疾增加、骨痛、活動能力下降、骨壞死和骨折風險增加。

【0028】 在一些實施例中，通過本發明的方法在ASMD患者中治療的異常骨狀況是骨量稀少或骨質疏鬆症。在一些實施例中，患者是成年人(例如，患者18歲或以上，包括65歲或以上的老年患者)。在其他實施例中，患者是兒科的患者(患者年齡小於18歲，例如，新生兒至6歲，6至12歲，或12至18歲的患者)。在一些實施例中，患者可患有A型尼曼-皮克病、B型尼曼-皮克病或A/B型尼曼-皮克病。在具體的實施例中，本文所述的方法用於治療患有慢性內臟ASMD (NPD B)的成年患者。在一些實施例中，本文所述的方法用於治療患有慢性內臟ASMD (NPD B)的兒科的患者。在其他實施例中，本文所述的方法用於治療具有ASMD的非神經表現的成年和兒科的患者。

骨狀況的評估

【0029】 可通過使用多種方法分析骨參數(在本文中統稱為“骨指標(bone indicators)”)來評估受試者中的骨狀況。骨指標可包括，例如，骨礦物質密度(BMD)、骨髓負擔(BMB)、骨齡、線性生長和某些骨生物標記物的狀態。在一些實施例中，可通過骨成像如X射線成像和磁共振成像(MRI)來評估異常骨狀況。可以在不同時間點從例如股骨和腰椎獲得骨掃描圖像，以評價骨礦物質密度(BMD)和骨髓負擔(BMB)作為在用本發明的組合物治療之前、期間和之後患者中的骨狀況的指標。在一些實施例中，使用DXA (雙能X射線吸收計量術)或MRI獲得圖像。在一些實施例中，大約每週、2週、3週、4週、5週、六週、1個月、2個月、3個月、4個月、5個月、6個月、7個月、8個月、9個月、10個月、11個月、1年、2年、3年、4年或5年可獲得骨掃描圖像，並與在本發明的治療之前獲得的基線圖像相比較。在一些實施例中，大約每6個月或每年可獲得骨掃描圖像。

【0030】 可使用T-和Z-分數為每個患者計算BMD。T-分數將患者的骨密度與同性別健康人的情況相比進行排名。Z-分數將患者的骨密度與相同年齡、性別、體重和種族的健康人的情況相比進行排名。

【0031】 從系列MRI掃描，可使用BMB評分系統評價BMB，該評分系統依賴於骨髓信號強度評分系統，對於腰椎和股骨(從左和右股骨平均得到的股骨分數)各自從可能的8分(總分為16分)給出分類分數。骨髓信號強度評分系統描述於例如Hangartner等, *Skeletal Radiol.* 37(3): 185-188 (2008); Robertson等, *AJM Am J Roentgenol.* 188(6): 1521-1528 (2007);和Maas等, *Radiology* 229(2): 554-561 (2003)，所有這些文獻都通過提述以其整體並入本文。

【0032】 在其他實施例中，會分析骨生物標記物以評估受試者的骨狀況。如本文所用，“骨生物標記物”指與骨形成和再吸收相關的生物標記物。例如，可在從患者收集的樣品中分析骨生物標記物，如血清骨特異性鹼性磷酸酶(ALP)和C-端肽。骨特異性ALP (活性骨形成的標記物)和C-端肽(骨再吸收的指示物)可用作骨狀況的指標。例如，在另一種脂質貯積病症戈謝病中，C-端肽血清濃度降低。在一些實施例中，可大約每1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11個月，或者每1、2、3、4或5年分析骨生物標記物，並與本發明治療前獲得的基線水平進行比較。在一些實施例中，可每3個月或6個月分析骨生物標記物。

【0033】 患有ASMD的大多數患兒生長延遲。ASMD兒科患者的身高和體重的Z分數常常低於未受ASMD影響的兒童。在ASMD兒科患者中，可分析額外的骨指標，如骨齡(例如，通過手部X射線確定)和線性生長以評估骨生長或骨骼發育。在例示性的實施例中，可進行手部X射線以收集患者的手、手指和手腕的圖像。可使用Greulich & Pyle Atlas (1959)從X射線計算骨齡(成熟)。如通過身高Z分數測量的線性生長是評估兒科患者生長的另一個骨指標物。

用ASM 治療異常骨狀況

【0034】 可用ASM ERT治療患有異常骨狀況的患者，如ASMD患者。如本文所用，“治療(treat, treating和treatment)”指減輕、消除或預防生物病症或病況和/或其伴隨症狀中的至少一種或延遲其發作或惡化(即進展)的方法。如本文所用，“減輕”疾病、病症或病況意指降低疾病、病症或病況的症狀的嚴重性和/或發生頻率。

【0035】 在一些實施例中，ASM ERT中使用的ASM可為人類ASM，例如，重組人類ASM (rhASM)。重組ASM可使用重組技術在原核或真核宿主細胞如哺乳動物宿主細胞(例如，中國倉鼠卵巢(CHO)細胞)中生產。在一些實施例中，rhASM是奧利普酶 α ，在CHO細胞中產生的人類ASM的糖型 α (EC-3.1.4.12)。成熟的奧利普酶 α 是570個胺基酸的多肽，其保留天然人蛋白質的酶促和溶酶體靶向活性。奧利普酶 α 的胺基酸序列，包括其前導序列(殘基1-57)顯示如下，其中前導序列以斜體加粗體表示。成熟的奧利普酶 α 序列(SEQ ID NO: 2，其跨越以下序列的殘基58-627)不具有前導序列。

MARYGASLRQ	SCPRSGREQG	QDGTAGAPGL	LWMGLALALA
LALALSDSRV	LWAPAEAHPL	SPQGHPARLH	RIVPRLRDVF
GWGNLTCPIC	KGLFTAINLG	LKKEPNVARV	GSVAIKLCNL
LKIAPPAVCQ	SIVHLFEDDM	VEVWRRSVLS	PSEACGLLLG
STCGHWDIFS	SWNISLPTVP	KPPPKPPSPP	APGAPVSRIL
FLTDLHWDHD	YLEGTDPDCA	DPLCCRRGSG	LPPASRPGAG
YWGEYSKCDL	PLRTLLESLLS	GLGPAGPFDM	VYWTGDIPAH
DVWHQTRQDQ	LRALTTVTAL	VRKFLGPVPV	YPAVGNHEST
PVNSFPPPI	EGNHSSRWLY	EAMAKAWEPW	LPAEALRTL
IGGFYALSPY	PGLRLISLNM	NFCSRENFWL	LINSTDPAGQ
LQWLVGELQA	AEDRGDKVHI	IGHIPPGHCL	KSWSWNYYRI
VARYENTLAA	QFFGHTHVDE	FEVFYDEETL	SRPLAVAFLA
PSATTYIGLN	PGYRVYQIDG	NYSGSSHVVL	DHETYILNLT
QANIPGAIPH	WQLLYRARET	YGLPNTLPTA	WHNLVYRMRG
DMQLFQTFWF	LYHKGHPPSE	PCGTPCRLAT	LCAQLSARAD
SPALCRHLM	DGSLPEAQL	WPRPLFC	(SEQ ID NO:1)

【0036】 在一些實施例中，ASM在胺基酸序列上與奧利普酶 α 99%、98%、97%、96%或95%相同。例如，可用於本發明的ASM具有美國專利6,541,218中所示的ASM序列，該文件的公開內容以其整體並

入本文。該序列顯示如下，其中前導序列以斜體加粗體表示，其中成熟蛋白質不具有前導序列：

MPRYGASLRQ ***SCPRSGREQG*** ***QDGTAGAPGL*** ***LWMGLVLALA***
LALALALSDS ***RVLWAPAEAH*** PLSPQGHPAR LHRIVPRLRD
VFGWGNLTCP ICKGLFTAIN LGLKKEPNVA RVGSVAIKLC
NLLKIAPPAV CQSIVHLFED DMVEVWRRSV LSPSEACGLL
LGSTCGHWDI FSSWNISLPT VPKPPPKPPS PPAPGAPVSR
ILFLTDLHWD HDYLEGTDPD CADPLCCRRG SGLPPASRPG
AGYWGEYSKC DLPLRTLLESL LSGLGPAGPF DMVYWTGDIP
AHDVWHQTRQ DQLRALTTVT ALVRKFLGPV PVYPAVGNHE
SIPVNSFPPP FIEGNHSSRW LYEAMAKAWE PWLP AEALRT
LRIGGFYALS PYPGLRLISL NMNFCSRENF WLLINSTDPA
GQLQWLVGEL QAAEDRGDKV HIIGHIPPGH CLKSWSWNY
RIVARYENTL AAQFFGHTHV DEFEVFYDEE TLSRPLAVAF
LAPSATTYIG LNPGYRVYQI DGNYSRSSHV VLDHETYILN
LTQANIPGAI PHWQLLYRAR ETYGLPNTLP TAWHNLVYRM
RGDMQLFQTF WFLYHKGHPP SEPCGTPCRL ATLCAQLSAR
ADSPALCRHL MPDGSLPEAQ SLWPRPLFC (SEQ ID NO:3)

【0037】 本發明中有用的ASM在胺基酸序列上也可與UNIPROT數據庫中作為序列P17405-1公開的人類ASM，或其多態變體相同。P17405-1序列顯示如下，前導序列以斜體加粗體表示，其中成熟蛋白質不具有前導序列：

MPRYGASLRQ ***SCPRSGREQG*** ***QDGTAGAPGL*** ***LWMGLVLALA***
LALALALSDS ***RVLWAPAEAH*** PLSPQGHPAR LHRIVPRLRD
VFGWGNLTCP ICKGLFTAIN LGLKKEPNVA RVGSVAIKLC
NLLKIAPPAV CQSIVHLFED DMVEVWRRSV LSPSEACGLL
LGSTCGHWDI FSSWNISLPT VPKPPPKPPS PPAPGAPVSR
ILFLTDLHWD HDYLEGTDPD CADPLCCRRG SGLPPASRPG
AGYWGEYSKC DLPLRTLLESL LSGLGPAGPF DMVYWTGDIP

AHDVWHQTRQ DQLRALTTVT ALVRKFLGPV PVYPAVGNHE
 STPVNSFPPP FIEGNHSSRW LYEAMAKAWE PWLP AEALRT
 LRIGGFYALS PYPGLRLISL NMNFCSRENF WLLINSTDPA
 GQLQWLVGEL QAAEDRGDKV HIIGHIPPGH CLKSWSWNY
 RIVARYENTL AAQFFGHTHV DEFEV FYDEE T LSRPLAVAF
 LAPSATTYIG LNP GYRVYQI DGNYS GSSHV VLDHETYILN
 LTQANIPGAI PHWQLLYRAR ETYGLPNTLP TAWHNLVYRM
 RGDMQLFQTF WFLYHKGHPP SEPCGTPCRL ATLCAQLSAR
 ADSPALCRHL MPDGSLPEAQ SLWPRPLFC (SEQ ID NO:4)

【0038】 在ASM敲除(ASMKO)小鼠模型中證明瞭奧利普酶 α 治療的概念驗證(proof of concept) (參見，例如，Miranda等, *FASEB* 14 (13):1988-95 (2000); Dhami等, *Lab. Invest.* 81(7): 987-99 (2001))。這些研究顯示，對ASMKO小鼠重複靜脈投予奧利普酶導致內臟器官中神經髓磷脂的劑量依賴性減少。在肺中也觀察到神經髓磷脂減少。ASMKO研究還顯示，當以高劑量給予時，奧利普酶 α 可引起毒性。然而，當給予ASMKO小鼠多個低劑量之後的高劑量時，奧利普酶 α 不引起用單次高劑量觀察到的毒性。

【0039】 奧利普酶 α 已用於針對治療非神經性ASMD表現的臨床研究。小鼠中的觀察結果導致開展了一期研究，以評價奧利普酶 α 治療的安全性和藥代動力學，其中奧利普酶 α 的單一、遞增劑量(0.03、0.1、0.3、0.6和1.0 mg/kg)在11位患者中進行了評價(McGovern等, *Genet. Med.* 15(8):618-623 (2013)和WO 2011/025996；其公開內容通過提述以其整體並入本文)。該研究中的患者顯示急性期反應物(包括神經鹽胺、膽紅素和高敏C-反應蛋白(hsCRP))的劑量相關增加。還報告了與首次劑量毒性相一致的涉及全身症狀(疼痛、發熱、噁心和嘔吐)的劑量相關的不良事件。

【0040】 評價奧利普酶 α 在26週治療期間的安全性和可耐受性的1b期研究以5位成年患者進行(Wasserstein等, *Mol. Genet. Metab.* 116(1-2):88-97 (2015)，通過提述以其整體並入本文)。此研究中的患者以劑量遞增的方式給予奧利普酶 α ，初始劑量為0.1 mg/kg，然後逐步每兩

週增加，至達到3.0 mg/kg的目標劑量。該研究顯示，劑量遞增方案耐受良好，沒有嚴重(serious)或重度(severe)的不良事件，並導致神經髓磷脂及其分解代謝產物逐漸削減(debulking)。削減指去除由於ASMD而在患者的內臟器官中已積累的神經髓磷脂。在患者中觀察到的改善包括脾和肝體積減少，間質性肺病分數降低，肺功能增加，血清殼三糖苷酶、CCL18、ACE和其他疾病生物標記物減少。發明人現已發現，當這些患者在長期安全性和療效評估中繼續治療和監測30個月時，他們顯示持續的安全性概貌和臨床相關參數(包括脾臟和肝臟體積、肺疾病分數，脂質概貌和ASM生物標記物)的連續改善。本發明人還令人預料不到地發現，患者在骨礦物質密度(BMD)和骨髓負擔(BMB)中顯示出顯著的改善。這些數據證明，ASM ERT可減輕或防止患者的異常骨狀況(如骨量稀少和骨質疏鬆症)的惡化。

ASM 投予的劑量和路徑

【0041】 包含如本文所述的ASM的醫藥組合物會以治療有效量投予用於治療所述病況(例如，ASMD相關的異常骨狀況)，即，以實現合意的結果所必需的劑量和時間段。治療有效量可根據如所治療的具體病症，患者的年齡、性別和體重，以及酶替代療法是作為獨立治療(stand-alone)投予還是與一種或多種額外的治療組合等因素而投予。

“治療有效量”指所投予的治療劑的量，其會在一定程度上緩解或防止所治療的病症或病況的一種或多種症狀的惡化。ASM組合物可以通過靜脈內注射投予。

【0042】 在一些實施例中，功效可指示為骨礦物質密度T-分數(例如，脊柱和/或股骨T-分數)的改善。在一些實施例中，T-分數改善至少0.5分。在一些實施例中，功效可指示為骨礦物質密度Z-分數(例如，脊柱和/或股骨Z-分數)的改善。在一些實施例中，Z-分數改善至少0.1分。

在一些實施例中，功效可指示為骨疾病(如骨量稀少或骨質疏鬆症)的改善，非惡化，或延遲其進展。在一些實施例中，功效可通過骨骼發育(如線性生長或骨齡(成熟)的改善來指示。在一些實施例

中，可針對從兒科患者的研究中收集的數據來測量骨骼發育中的改善 (Wasserstein等, *J Pediatr* 142(4):424-428 (2003))。在其他實施例中，可針對在ASM療法之前每個患者的生長圖測量骨骼發育的改善。

【0043】 在一些實施例中，本發明的方法涉及一種劑量遞增方案，其中在適當的時間內投予增加劑量的ASM (例如，rhASM如奧利普酶 α)以逐漸削減先前積累的神經髓磷脂並使由神經髓磷脂分解代謝產物引起的毒性副作用最小化。例如，治療可涉及向患者投予ASM的一個或多個初始的、低的、非毒性劑量，以減少患者中已積累的神經髓磷脂的量。每個遞增劑量可與先前劑量隔開一週、兩週或三週。在具體實施例中，遞增劑量投予相隔兩週。如本文所用，術語“非毒性劑量”等指給予ASMD患者而不導致以下的一種、兩種、三種或全部的ASM劑量：(i)中度或重度相關不良事件，如通過幹擾正常日常功能並需要額外的監測、幹預或治療的臨床症狀，或者需要進一步監測、治療或調查的臨床關注的異常實驗室值或程序結果，所定義的。參見，例如，臨床數據交換標準聯盟研究數據製表模型(Clinical Data Interchange Standards Consortium Study Data Tabulation Model)標準術語3.1.1版；(ii)總膽紅素值大於1.5 mg/dL、2 mg/dL、3 mg/dL或4 mg/dL，其在投予rhASM的劑量後持續超過一週，兩週或三週；(iii)投予ASM的劑量後24小時、36小時、48小時或72小時，血漿神經醯胺濃度大於8.2 μ g/dL、9 μ g/dL、10 μ g/dL、15 μ g/dL、20 μ g/dL、30 μ g/dL、40 μ g/dL、50 μ g/dL、60 μ g/dL、70 μ g/dL或80 μ g/dL；或(iv)急性期應答/反應。ASM的“非毒性劑量”可根據例如所用酶的穩定性，所用酶的活性和/或投予酶的途徑而變化。例如，具有增加的活性的修飾的ASM酶的劑量可低於未修飾的ASM的劑量。本領域技術人員能夠基於酶的穩定性、酶的活性和/或酶的投予途徑來調節所投予的酶的劑量。

【0044】 在一段時間後，ASM的劑量可以遞增，直至達到患者所耐受的最高治療有效劑量。一旦鑒定了此劑量，可將其用作治療患者的維持劑量。或者，一旦患者的ASMD病況在劑量遞增方案後穩定，可

將維持劑量從最高遞增劑量減少。可將維持劑量每1、2、3或4週投予於患者。在一些實施例中，維持劑量每兩週投予一次。

【0045】 如本文所用，術語“維持劑量”指投予於ASMD患者以維持合意的治療效果(例如，在一種或多種異常骨狀況例如本文所述的那些中的改善或非惡化)的本文所述的ASM的劑量。在具體的實施例中，維持劑量維持以下合意的治療效果中的一種、兩種、三種、四種或更多種：(i)脾體積的減少，如通過本領域已知的技術(例如，MRI)評估的；(ii)肝神經髓磷脂水平的降低，如通過本領域已知的技術(例如，肝樣品的生化分析和/或組織形態學分析)評估的；(iii)運動能力的增加，如通過本領域已知的技術(例如，通過循環測功的最大工作負荷，包括預測的最大工作負荷百分比，峰值氧消耗和二氧化碳產生)評估的；(iv)肺功能的增加，如通過本領域已知的技術(例如，American Thoracic Society, *Am. Rev. Respir. Dis.* 144: 1202-1218 (1991)中所述的技術，如擴散能力(DLco)，如通過例如肺活量測定技術測量的預測的用力肺活量百分比(FVC)，如通過例如肺活量測定技術測量的1秒內的用力呼氣體積(FEV1)，和總肺容量)評估的；(v)支氣管肺泡灌洗(BAL)神經髓磷脂的減少；(vi)肝體積的減少，如通過本領域已知的技術(例如，MRI)評估的；(vii)肺外觀的改善，如通過本領域已知的技術(例如，高分辨率計算機斷層攝影術(CT)掃描或胸部X-線)評估的；(viii)肝臟、皮膚、血漿和幹血斑(DBS)中神經髓磷脂或溶血神經髓磷脂濃度的降低，如通過例如串聯質譜術測量的；(ix) ASMD和/或與之相關的症狀的嚴重程度的降低或改善；(x)與ASMD有關的症狀的持續時間減少；(xi)防止與ASMD有關的症狀的復發；(xii)受試者的住院治療減少；(xiii)住院治療長度減少；(xiv)受試者的生存/存活率增加；(xv)死亡率降低；(xvi)住院率下降；(xvii)與ASMD相關的症狀數目減少；(xviii) ASMD患者的無症狀生存/存活率增加；(xix)神經功能(例如，精神/心理運動功能，社交反應等)改善；(xx)肺清除率的改善，如通過例如BAL細胞計數和概貌測量的；(xxi)殼三糖苷酶的血清水平降低；(xxii)趨化因子(c-c)基序配體18 (CCL18)的血清水平降低；(xxiii)脂質概貌(例如，HDL，LDL，膽固醇，甘油三酯，和總膽固醇:HDL比

率)改善；(xxiii)異常骨狀況改善；和(xxiv)生活品質(QOL)改善，如通過例如調查問卷如簡短疲勞量表(Brief Fatigue Inventory, BFI) (Mendoza等, *Cancer* 85(5):1186-1196 (1999))、簡短疼痛清單-簡表(Brief Pain Inventory-Short Form, BPI-SF) (Cleeland C., *Acta Paediatr. Suppl.* 91(439):43-47 (2002))或兒科生活品質(Pediatric Quality of Life, PedsQL)調查表(Varmi等, *Medical Care* 39(8):800-812 (2001))或PedsQL多維疲勞量表(Multidimensional fatigue scale) (Varmi等, *J Rheumatol* 31(12):2494-2500 (2004))評估的。在一些實施例中，最高維持劑量是患者所耐受的最高或最大劑量。

【0046】 在一些實施例中，每1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11個月或每年或每兩年監測接受維持劑量的患者如下的一項或多項：(i)相關的不良事件；(ii)總/直接/間接膽紅素濃度；(iii)血漿神經醯胺濃度；或(iv)急性期反應。在一些實施例中，每3個月、每6個月或每年監測患者。如果患者經歷中等強度的相關的不良事件，總膽紅素濃度大於沒有ASMD的人(例如，健康的人)的總膽紅素值，血漿神經醯胺濃度大於沒有ASMD的人(例如，健康的人)的血漿神經醯胺濃度或急性期反應，那麼可以由醫生或其他醫學專業人員評價投予於患者的劑量以確定劑量是否應該調整。

【0047】 在一些實施例中，用於治療患有ASMD的人患者的方法包括：(a)劑量遞增方案(例如，用於削減人患者中積累的神經髓磷脂受質)，其包括：(i)將初始劑量(例如，低、非毒性劑量如0.1 mg/kg)的如本文所述的ASM (例如，奧利普酶 α)投予於人患者；(ii)將連續更高劑量的ASM投予於人患者，和(iii)在每個連續劑量後監測患者一種或多種不良副作用，如通過例如總膽紅素濃度升高，血漿神經醯胺濃度升高，溶血-神經髓磷脂，殼三糖苷酶，急性期反應物的產生，炎性介導物的產生，或不良事件(例如，如通過臨床數據交換標準聯合會研究數據製表模型標準術語3.1.1版定義的)所指示的；和(b)維持方案，其包括投予等於或小於患者所耐受的最高劑量的劑量(例如，等於或小於3 mg/kg)作為患者的維持劑量。

【0048】 在一些實施例中，用於治療患有ASMD的人患者的方法包括：(a)劑量遞增方案(例如，用於削減人患者中積累的神經髓磷脂受質)，其包括：(i)將初始劑量(例如，低、非毒性劑量如0.1 mg/kg)的如本文所述的ASM (例如，奧利普酶 α)投予於人患者；(ii)如果患者不表現如通過例如總膽紅素濃度升高，血漿神經醯胺濃度升高，急性期反應物的產生，溶血-神經髓磷脂，殼三糖苷酶，炎性介導物的產生，或不良事件(例如，如通過臨床數據交換標準聯合會研究數據製表模型標準術語3.1.1版定義的)所指示的一種或多種不良副作用，則將連續更高劑量的ASM投予於人患者；和(b)維持方案，其包括重複投予等於或小於患者所耐受的最高劑量(例如，等於或小於3 mg/kg)的維持劑量。在一些實施例中，在投予一劑ASM後一段時間(例如，6小時、12小時、16小時、24小時、48小時、72小時、每週或直到下一個劑量)監測患者的一種或多種不良副作用。在一些實施例中，在患者的治療過程中可調節投予的維持劑量。在一些實施例中，投予於患者的最高維持劑量是患者耐受的最高劑量。

【0049】 在一些實施例中，初始劑量範圍為0.025至0.275 mg/kg，例如，0.03 mg/kg至0.5 mg/kg，0.01至0.5 mg/kg，或0.1 mg/kg至1 mg/kg的ASM (例如，奧利普酶 α)。在具體的實施例中，初始劑量為0.03 mg/kg或0.1 mg/kg。例如，兒科患者的初始劑量可為0.03 mg/kg；並且成年患者的初始劑量可為0.1 mg/kg。在一些實施例中，兒科或成年患者的初始劑量可為0.1 mg/kg。

【0050】 在一些實施例中，患者會在上升至下一個更高劑量之前被給予相同劑量的奧利普酶 α 至少兩次。在一些實施例中，連續更高劑量在先前劑量後投予一、二、三或四週。在一些具體的實施例中，連續更高劑量在先前劑量後各投予兩週。在具體實施例中，連續更高劑量比先前劑量高0.05-1.0 mg/kg、0.1-3.0 mg/kg或0.5-2.0 mg/kg，例如，比先前劑量高約0.07 mg/kg、0.2 mg/kg、0.3 mg/kg、0.4 mg/kg或1 mg/kg。

【0051】 在一些實施例中，患者耐受的最高治療有效劑量為1 mg/kg至2.5 mg/kg、2 mg/kg至3 mg/kg、3 mg/kg至5 mg/kg。在一些實施例

中，患者耐受的最高治療有效劑量為1 mg/kg、2 mg/kg、3 mg/kg、4 mg/kg或5 mg/kg。在一些實施例中，患者耐受的最高劑量為1 mg/kg至3 mg/kg，例如，1 mg/kg至2.5 mg/kg。在一些實施例中，將最高劑量投予於人患者作為最高維持劑量。在一些實施例中，最高維持劑量為例如0.3 mg/kg、0.6 mg/kg、1 mg/kg、2 mg/kg或3 mg/kg的量。在具體的實施例中，最高維持劑量為3 mg/kg。隨後的維持劑量可以與最高維持劑量相同的量或小於最高維持劑量的量投予。在一些實施例中，維持劑量為0.3-3 mg/kg。

【0052】 在一些實施例中，劑量遞增方案可需要以多個劑量以例如0.1 mg/kg、0.3 mg/kg、0.3 mg/kg、0.6 mg/kg、0.6 mg/kg、1.0 mg/kg、2.0 mg/kg和3.0 mg/kg (最高維持劑量)的順序投予ASM，其中連續劑量各自在先前劑量後投予兩週。在其他實施例中，劑量遞增方案可需要以多個劑量以例如0.03 mg/kg、0.1 mg/kg、0.3 mg/kg、0.3 mg/kg、0.6 mg/kg、0.6 mg/kg、1.0 mg/kg、2.0 mg/kg和3.0 mg/kg (最高維持劑量)的順序投予ASM，其中連續劑量各自在先前劑量後投予兩週。

【0053】 在一些實施例中，每週、每2週、每3週或每4週向患者投予一劑如本文所述的ASM。在具體的實施例中，劑量以每兩週的間隔通過例如靜脈內注射投予。

【0054】 在一些實施例中，本發明的方法涉及在6至30個月的時間投予ASM劑量，例如，在不超過6個月，7個月，8個月，9個月，10個月，11個月，12個月，13個月，14個月，15個月，16個月，17個月，18個月，19個月，20個月，21個月，22個月，23個月，24個月，25個月，26個月，27個月，28個月，29個月或30個月的時間，用於改善靶向的骨狀況。在一些實施例中，ASM劑量在不超過30個月的時間投予。

【0055】 在另外的實施例中，本發明的方法涉及投予方案和/或投予途徑，如例如WO 2011/025996中所述，其公開內容通過提述以其整體並入本文。

【0056】 在具體的實施例中，用於治療成年或兒科ASMD患者的劑量遞增方案可為，例如，如下表中所示：

表 1 劑量遞增計劃

治療週	奧利普酶 α 的劑量(mg/kg)
0	0.1
2	0.3
4	0.3
6	0.6
8	0.6
10	1.0
12	2.0
14	3.0
16	3.0

【0057】 在另外的具體實施例中，用於治療兒科ASMD患者的劑量遞增方案可為例如如下表中所示：

表 2 用於兒科患者的劑量遞增計劃

治療週	奧利普酶 α 的劑量(mg/kg)
0	0.03
2	0.1
4	0.3
6	0.3
8	0.6
10	0.6
12	1.0
14	2.0
16	3.0

【0058】 在一些實施例中，兒科患者群體包括ASMD青少年群組(年齡12至<18歲)、ASMD兒童群組(年齡6至<12歲)和嬰兒/早期兒童群組(出生至<6歲)。

製品和套組

【0059】 本發明還提供包含如本文所述的ASM的製品和套組。在一些實施例中，所述製品和套組適於治療如本文所述的患者，例如患有ASMD的患者。例如，製品和套組可適於治療患有ASMD的患者中的本文所述的異常骨狀況。在一些實施例中，製品和套組中的藥物活性成分經製備用於以本文所述的劑量投予，並經配製用於通過本文所述的方法投予。

【0060】 除非本文另有定義，否則結合本發明使用的科學和技術術語應具有本領域普通技術人員通常理解的含義。例示性方法和材料在本文中描述，儘管與本文所述的那些類似或等同的方法和材料也可以用於本發明的實踐或測試。在衝突的情況下，以本說明書(包括定義)為準。通常，與本文所述的細胞和組織培養、分子生物學、免疫學、微生物學、遺傳學、分析化學、合成有機化學、醫藥和藥物化學、蛋白質和核酸化學和雜交相關的命名法和技術是本領域常用的和已知的那些。酶促反應和純化技術根據製造商的說明書進行，如本領域通常完成的或如本文所述。本文提及的所有出版物和其他參考文件都通過提述以其整體並入。儘管本文引用了許多文獻，但此引用並不構成承認任何這些文獻形成本領域公知常識的部分。此外，除非上下文另有要求，否則單數術語應包括複數，而複數術語應包括單數。在整個說明書和實施例中，單字“具有(have)”和“包含(comprise)”或變型如“具有(has, having)”、“包含(comprises)”或“包括(comprising)”會被理解為暗示包括所述整體(integer)或整體的組，但不排除任何其他整體或整體的組。

【0061】 為了更好地理解本發明，列出以下實施例。這些實施例僅用於說明目的，而不應解釋為以任何方式限制本發明的範圍。

實例

實施例 1：在患有 ASMD 的患者中評估奧利普酶 α 的安全性和有效性的長期研究

患者和研究設計

【0062】 該研究的目的是獲得關於在患有ASMD的患者中奧利普酶 α 在長期投予後的安全性和有效性的信息。這項正在進行的、開放標籤的長期研究(LTS) (NCT02004704; EudraCT號: 2013-000051-40)追蹤5名患有慢性ASMD的成年患者，他們先前參與了1b期研究(Wasserstein等, Mol Genet Metab 116(1-2):88-97 (2015))。在治療30個月後分析所有患者的數據。每個地點的機構審查委員會(Institutional Review Board)或道德委員會(Ethics Committee)批准了該規程，並且所有患者都提供了書面知情同意書。該研究根據臨床試驗規範(Good Clinical Practice)和赫爾辛基宣言(Declaration of Helsinki)的原則進行。

【0063】 先前描述了1b期研究的合格標準。同上。以可接受的安全性概貌完成1b期研究的患者有資格繼續進行LTS並以與他們在1b期研究結束時正接受的劑量相同的奧利普酶 α 劑量繼續。

結果測量和分析

【0064】 安全性評估包括標準血液學和化學組(panel)和連續AE監測，包括輸注相關的反應(IARs)，如先前在McGovern等 Genet Med 18(1):34-40 (2015)和Wasserstein等 Mol. Genet. Metab. 116(1-2):88-97 (2015)中所述。通過液相色譜-串聯質譜(LC/MS/MS)評估神經髓磷脂和分解代謝產物血漿神經醯胺。骨病況生物標記物還包括通過LC/MS/MS測定的殼三糖苷酶(血清)和溶血-神經髓磷脂[幹血斑(DBS)]。如先前在McGovern等, 2015, 見上文和Wasserstein等 Mol. Genet. Metab. 116(1-2):88-97 (2015)中所述評估抗藥物抗體的產生。

【0065】 從腹部MRI確定脾和肝體積的定量測量值，並將器官體積表示為正常的倍數(MN)。使用標準化公式(Crapo和Morris Am Rev Respir Dis 123(2):185-189 (1981), Macintyre等 Eur Respir J 26(4):720-

735 (2005))計算肺對於一氧化碳的血紅蛋白調整的擴散能力(DLco)的預測百分比。高分辨率計算機斷層攝影術(HRCT)評估浸潤性肺病。對肺視野HRCT圖像的毛玻璃外觀(GG)、間質性肺病(ILD)和網狀結節密度(RND)從0 (無疾病)到3 (重度疾病)進行主觀評分，如先前在McGovern等, 2015, 見上文和Wasserstein等, 2015, 見上文中所述。

【0066】 在整個研究中測量了空腹血漿脂質概貌，包括總膽固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL-C)、高密度脂蛋白(HDL-C)和甘油三酯的測量值。非HDL水平事後(post-hoc)計算為總膽固醇和HDL-膽固醇水平之間的差(Jacobson等, J. Clin. Lipidol. 9(2):129-169 (2015))。

【0067】 骨髓負擔(BMB)是由腰椎和兩股骨的MRI確定的，其中圖像定量指示脂質負載細胞的骨髓浸潤程度(Robertson等, AJR. Am. J. Roentgenol. 188(6):1521-1528 (2007))。骨礦物質密度(BMD)是由腰椎和兩股骨的雙能X射線吸收測定術(DXA)骨掃描圖像和確定T-和Z-分數(WHO JAMA 285(6):785-795 (2001))來確定的。使用由國際臨床密度測定學會(International Society for Clinical Densitometry)提供的指導(ISCN 2015)評估BMD。

【0068】 使用從0 (不存在)到10 (最差)11分量表的患者報告的結果包括經驗證的簡短疲勞量表(BFI) (Mendoza等, Cancer 85(5):1186-1196 (1999))；和簡短疼痛清單-簡表(BPI-SF)調查問卷，以在基線時和整個治療中定期評估對日常活動的幹擾(Cleeland C., Acta Paediatr. Suppl. 91(439):43-47 (2002))。

統計方法

【0069】 為分類和連續變量提供描述性統計，對器官體積和DLco計算自基線的變化和自基線的百分比變化，以及通過配對t檢驗和威爾科克森-曼-惠特尼(Wilcoxon-Mann-Whitney)檢驗確定差異。

患者和暴露

【0070】 完成1b期研究的所有五名成年患者(3名男性和2名女性白人患者)繼續在LTS中治療。在基線時，所有患者均患有脾腫大(範圍7.4至16.1 MN)、肝腫大(範圍1.2至2.2 MN)、氣體交換受損(預測的DLco的43至80%)和促動脈粥樣硬化的脂質概貌。患者特徵先前已經公佈

(Wasserstein等 Mol. Genet. Metab. 116(1-2):88-97 (2015))並總結於表3中。患者的大多數(4/5)維持在3 mg/kg 奧利普酶 α 目標劑量貫穿30個月的治療。對於患者2，由於下面描述的AE，劑量減少至2 mg/kg進行6個月(12-18個月)，然後減少至1 mg/kg (18個月-目前)。

表 3：患者人口統計和基線特徵(Wasserstein 等, 2015)

患者 ID	1	2	3	4	5	平均(SD)
	男性	女性	女性	男性	男性	
ASMD 症狀發作年齡(歲)	2	1	6	0	12	4.2 (4.9)
ASMD 診斷年齡(歲)	2	2	12	8	12	7.2 (5.0)
首次奧利普酶 α 輸注的年齡(歲)	31	32	47	28	22	32.6 (9.4)
脾體積(MN) ^a	14.49	17.92	7.41	16.07	7.96	12.77 (4.81)
肝體積(MN) ^a	2.23	2.20	1.21	1.76	1.29	1.74 (0.48)
DL _{CO} (%預測的) ^b	43.7	48.0	77.0	43.0	80.0	58.3 (18.5)
TC (mmol/L) ^c	4.70	3.83	5.26	4.66	3.63	4.42 (0.67)
HDL-C (mmol/L) ^d	0.32	0.36	0.96	0.31	0.57	0.50 (0.28)
非-HDL-C (mmol/L) ^e	4.38	3.47	4.30	4.35	3.06	3.91 (0.61)
LDL-C (mmol/L) ^f	3.38	2.59	3.32	2.69	2.25	2.85 (0.49)
VLDL-C (mmol/L) ^g	0.88	0.88	0.98	1.66	0.80	1.04 (0.35)
甘油三酯(mmol/L) ^h	2.20	1.55	1.14	4.35	1.38	2.12 (1.31)

ASM = 酸性神經髓磷脂酶；ASMD = 酸性神經髓磷脂酶缺乏症；C = 膽固醇；DL_{CO} = 一氧化碳的肺擴散；HDL = 高密度脂蛋白；LDL = 低密度脂蛋白；MN = 正常的倍數；SD = 標準偏差；TC = 總膽固醇；VLDL = 極低密度脂蛋白

^a MN, 假定正常脾體積(L)為 0.2%體重(kg)和正常肝體積(L)為 2.5%體重(kg)計算的正常的倍數

^b 正常 DL_{CO} >80%；輕度降低的 >60%至≤80%；中度降低的 40-60%；重度降低的 <40%

^c 總膽固醇正常範圍：美國 <5.18 mmol/L；英國 0-3.9 mmol/L

^d HDL 正常範圍：美國男性 >0.777；美國女性 >0.9065 mmol/L；英國 >1.2 mmol/L

^e 計算為 TC 與 HDL-C 的差(Jacobson 等, 2015)

^f LDL 正常範圍：美國 <3.3411 mmol/L；英國 0-2 mmol/L

^g VLDL 正常範圍：美國 <0.518 mmol/L；英國 0.09-0.71 mmol/L

^h 甘油三酯正常範圍：<1.7 mmol/L

安全性

【0071】 在治療30個月期間沒有死亡、嚴重或重度事件或者中斷。所有患者具有至少1個AE，並且幾乎所有(826/838, 98.5%)在強度上都是輕度的。在被認為與治療相關的443例AE中，96例(21.7%)被認為是IAR (包括頭痛、噁心、異常疼痛、關節痛、肌肉骨骼疼痛和肌痛)。在1b期研究期間(前6個月)，出現6例被認為是IAR的中度AE，並且先前曾被報導過(Wasserstein等 *Mol. Genet. Metab.* 116(1-2):88-97 (2015))。從6-30個月在LTS中，被認為是IAR的5例中度AE包括患者2中的腹痛、肝痛、噁心、肌肉痙攣和感覺障礙。沒有超敏反應、急性期反應或細胞因子釋放綜合征。沒有患者產生對奧利普酶 α 的IgG抗體。在生命體征、血液學或心臟安全性參數方面沒有臨床上顯著的不良變化。

【0072】 在1b期研究(Wasserstein等 *Mol. Genet. Metab.* 116(1-2):88-97 (2015))結束時穩定的炎症標記物IL-6、IL-8和hsCRP的水平對除患者2外的所有患者保持穩定，所述患者2從第6個月到第30個月具有hsCRP波動(1.10至33.3 mg/mL; 正常範圍0-5)。所有患者的血漿神經酰胺水平(圖1A)均保持在正常限度(1.8-6.5 μ g/mL)內。

【0073】 對於所有患者，肝功能酶水平保持在正常範圍內直到第30個月，此時患者4在ALT (1.4x正常)和AST (2.9x正常)方面具有短暫升高，而無相應的AE並且隨後是正常水平。對於所有患者，總膽紅素和GGT水平保持與基線水平相似或低於基線水平。鐵水平隨時間波動，但保持在正常範圍內或接近於正常範圍。

【0074】 在階段1b劑量遞增期間，患者2經歷導致重複2 mg/kg劑量的IAR (Wasserstein等 *Mol. Genet. Metab.* 116(1-2):88-97 (2015))。該患者隨後在1b期試驗中和LTS的前6個月期間接受3 mg/kg的目標劑量，此時患者在大多數輸注後7-10天報告輕度AE，包括噁心、頭痛、疲勞、疼痛、間歇性腹痛和偶爾發燒(38.3至40.0°C)。時期持續~3天，並通過下次輸注完全解決。奧利普酶 α 減少(2 mg/kg進行6個月，然後至1 mg/kg的當前劑量)。減少劑量並未改變所報告事件的時間、頻率或類型。

有效性

脾和肝體積

【0075】 脾和肝體積在所有患者中相對於基線減小(圖2A)。平均脾體積從基線處的正常的12.8倍(MN)減少到30個月的6.7 MN，比基線減少47.3% ($p < 0.0001$)。平均肝體積從基線處的1.7 MN降至30個月的1.07 MN，比基線降低35.6% ($p = 0.006$)。

浸潤性肺疾病

【0076】 預測的DLco百分比在所有患者中相對於基線值增加(圖2B)並且從基線處平均值53.2% (中度)改善至30個月的67.1% (輕度)。最大的變化發生在三個患者中，他們具有在基線時預測的DLco %值最低($< 40\%$ ，在嚴重範圍內)。圖2B還顯示了在基線時、6個月、18個月和30個月對組分以平均分數的浸潤性肺疾病的評估。數據顯示所有參數(特別是在GG外觀和RND)逐漸減少，幾乎完全解決(resolved)。

空腹脂質參數

【0077】 空腹脂質概貌在圖4中顯示。到30個月，甘油三酯降低42.99% ($p = 0.02$)，總膽固醇降低12.7% ($p = 0.04$)，LDL-C降低22.8% ($p = 0.007$)，和HDL-C增加137.6% ($p = 0.01$)。非-HDL膽固醇水平(總膽固醇減去HDL-C)在4/5 患者中在基線時為 > 3.37 mmol/L (> 130 mg/dL) (平均3.91 mmol/L)且在所有患者中在30個月為 < 3.37 mmol/L (平均2.66 mmol/L)。

生物標記物評估

【0078】 DBS中的平均溶血-神經髓磷脂水平在基線處為正常上限(ULN = $69 \mu\text{g/L}$)的5倍高並且降至接近正常水平，從6個月到30個月保持穩定(圖1B)。

【0079】 輸注前血清殼三糖苷酶水平從基線處的735 nmol/hr/mL穩定下降72.3%至30 個月時的221 nmol/hr/mL ($p = 0.0007$)，接近正常殼三糖苷酶範圍的上限(≤ 181 nmol/hr/mL) (圖1C)。數據未針對兩位患者進行調整，所述兩位患者就降低血清殼三糖苷酶活性的共同的24-bp重複而言為雜合)。

血液學

【0080】 大多數患者保持血小板計數剛好低於正常值或在低-正常範圍內。患者1在整個研究中具有低-正常($150 \times 10^9/L$)以下的值($57-102 \times 10^9/L$)。平均血小板計數自基線變化隨時間波動(增加) [5.9% (第27個月)-25.7% (第9個月)]，在30個月時為20.6%。血紅蛋白水平保持與基線水平相似(自基線的平均變化範圍從第12週的-6.1%到第24個月的6.9%)並且對於所有患者在正常水平內(數據未顯示)。

骨密度

【0081】 在基線時，平均脊髓T-分數在 -1.48 ± 1.14 處於骨量稀少範圍(-1.0 和 -2.5 之間)內，而Z-分數指示在低BMD截止值(-2.0)的-1標準偏差內的正常BMD (-1.36 ± 1.26)。T-和Z-分數均在30個月改善(分別為 -0.94 ± 1.03 和 -0.78 ± 1.11)。患者2 (女性，基線處32歲)具有骨質疏鬆範圍內的基線脊柱T-分數(-3.06)，在18個月(-2.48)和30個月(-2.65)改善至骨量稀少/骨質疏鬆症邊界上的值。兩名在基線時具有骨質疏鬆範圍內的T-分數的患者(患者1，男性，基線處31歲， -1.31 和患者4，男性，基線處28歲， -2.14)在30個月具有正常範圍內的分數(分別為 -0.76 和 -0.82)。個體Z分數隨時間的結果相似。

【0082】 平均股骨T-和Z-分數在基線時(分別為 -0.38 ± 1.35 和 -0.27 ± 1.46)和30個月時(分別為 -0.28 ± 1.27 和 -0.13 ± 1.4)處於正常範圍內。患者2具有骨質疏鬆範圍內的基線股骨T-分數(-2.23)和指示低BMD的Z-分數(-2.18)；兩者都在30個月輕微地改善(分別為 -1.89 和 -1.82)。

骨髓負擔

【0083】 BMB的平均分類分數在基線時(6.2 ± 2.5)和30個月時(5.6 ± 1.1)相似。患者2在基線時具有10的最高總BMB分數，其在18和30個月時提高了3分(得分為7)。患者2在基線時和30個月的奧利普酶 α 治療後的T1-和T2-加權股骨和脊柱圖像在圖3中顯示。在30個月的治療後，在基線時觀察到的近端骨骺骨髓的低強度降低。在脊柱中，在30個月的治療後，在基線時觀察到的骨髓的彌漫性浸潤和骶前脂肪的高強度信號強度分別為未改變和得到改善。

患者報導的結果

【0084】 平均BFI $\pm$ SD疲勞分數在基線時為3.04 $\pm$ 2.29，在30個月時為2.44 $\pm$ 3.44。平均BFI $\pm$ SD疼痛嚴重程度分數在基線時為3.45 $\pm$ 2.77，在30個月時為2.90 $\pm$ 2.70，和平均BFI $\pm$ SD疼痛幹預分數在基線時為2.03 $\pm$ 1.58，在30個月時為3.29 $\pm$ 3.51。在所有時間點，大多數個體BFI和BPI疼痛嚴重程度分數在輕度(0-3)或中度(4-6)類別中。患者5是例外，其BPI疼痛在基線時(6.8)和30個月時(7)為重度(7-10)。BPI疼痛幹擾分數對於患者2 (在基線時為2，在30個月時為8.1)和患者3 (在基線時為1.9，在30個月時為5.3)增加。由患者2報告的疲勞在基線時為中度(5.8)，在30個月時為重度(8.3)。

【0085】 此研究證明瞭，用奧利普酶 α 治療30個月(開發用於ASMD的第一個病因特異性治療)具有良好的耐受性，並與相關疾病臨床措施中改變生活的持續改善相關。30個月安全概貌類似於1b期研究概貌(Wasserstein等, Mol. Genet. Metab. 116(1-2):88-97 (2015))。沒有超敏反應，也沒有檢測到抗藥物抗體。迄今為止，在暴露於奧利普酶 α 的任何患者中均未觀察到細胞因子釋放綜合征。由於IAR不是免疫反應，它們可能與生物活性神經髓磷脂代謝物(主要是神經醯胺，其為細胞因子釋放、炎症和細胞凋亡中的信號介導)的釋放有關(Spiegel等, Curr. Opin. Cell Biol. 8(2):159-167 (1996); Gulbins等, J. Mol. Med. 82(6):357-363 (2004))。在治療的前六個月期間，奧利普酶 α 劑量引發血漿神經醯胺水平的短暫增加，其通常在輸注後48小時達到峰值(Wasserstein等 Mol. Genet. Metab. 116(1-2):88-97 (2015))。輸注前和輸注後神經醯胺水平均隨著每次連續的奧利普酶 α 輸注而穩定下降，治療3個月後處於平臺期/停滯期(plateauing)，並在30個月中保持穩定。

【0086】 臨床改善在整個30個月中持續。肝和脾體積中統計學顯著的改善(肝體積的平均百分比降低為31.2%和脾體積的平均百分比降低為39.3%)與其他溶酶體貯積症對ERT的反應相當。在戈謝病中，脾體積的治療目標是在治療的第一年期間減少30%至50%，肝體積的治療目標是在治療的前2年內減少20%至30% (Pastores等, Semin Hematol 41 (Supple 5):4-14 (2004))。

【0087】 患有慢性內臟或慢性腦脊髓交感神經系統的ASMD的患者顯現浸潤性肺疾病隨著年齡的惡化(Wasserstein等, *Pediatrics* 114(6):e672-677 (2004))。在30個月的治療後，肺擴散能力自基線增加了35%，在基線時具有最低DLCO的3位患者中有突出的變化。在治療的前6個月期間觀察到的肺疾病分數的改善(Wasserstein等 *Mol. Genet. Metab.* 116(1-2):88-97(2015))在隨後的2年治療期間持續，使得一些參數(例如，GG外觀和RND)已經正常化。

【0088】 致動脈粥樣硬化脂質概貌在患有慢性ASMD的患者中通常隨年齡惡化(Wasserstein等, *Pediatrics* 114(6):e672-677(2004))，且脂質異常可與早期冠狀動脈疾病相關(McGovern等, *J. Pediatr.* 145(1):77-81(2004))。在基線時，患者基於脂質概貌處於心血管疾病的輕度至中度風險中(Wasserstein等 *Mol. Genet. Metab.* 116(1-2):88-97(2015))，而概貌在30個月的治療後得到改善。非HDL膽固醇水平被認為是許多患者群體中心血管風險的良好預測物，且合意水平為 $< 3.37 \text{ mmol/L}$ ($< 130 \text{ mg/dL}$) (Jacobson等, *J. Clin. Lipidol.* 9(2):129-169 (2015))。在ERT之前，除一位患者外的所有患者都具有 3.37 mmol/L 以上的非HDL水平，並且在30個月時總膽固醇和HDL水平對於所有患者均得到改善，非HDL低於 3.37 mmol/L 截止值。

【0089】 骨骼並發症也是慢性ASMD的突出特徵。在一些患者中，特別是在脊柱中注意到BMD的改善，證明瞭奧利普酶 α 對於患有ASMD的成人中的BMD具有有益作用。在患有低BMD如戈謝病的其他脂質貯積病症中，ERT與抗再吸收療法(antiresorptive therapy)的組合可改善骨量稀少(Wenstrup等, *Blood* 104(5):1253-1257 (2004))，儘管骨病對單獨ERT的反應在成年患者中緩慢(Wenstrup等, *J. Bone Miner. Res.* 22(1):119-126 (2007))。然而，由於ASM活性的抑制，雙膦酸鹽可不適合患有ASMD的患者(Arenz *Cell Physiol. Biochem.* 26(1):1-8 (2010))。沒有研究患者接受雙膦酸鹽治療。來自此研究的結果指示，單獨使用奧利普酶 α 可改善骨量稀少。

【0090】 其他臨床措施顯示ERT期間的改善或穩定性。血小板計數和血紅蛋白水平保持穩定。在基線時測量得到中等水平的BMB，而在

30個月的奧利普酶 α 治療後在一些患者中注意到改善。患者在基線時有輕度至中度水平的疼痛和疲勞，這對於大多數患者而言在30個月時保持穩定。對於患者3患者報告的結果的惡化與AE無關。患者2報告在ERT一年後疲勞和疼痛的惡化，具有特徵為流感樣症狀的AE。此患者患有非典型紅斑狼瘡，而且不確定這是否導致疲勞和疼痛、AE和炎性細胞因子波動。在此患者中，將奧利普酶 α 降低至1 mg/kg/週對AE發生、疲勞或疼痛沒有影響。以較低的奧利普酶 α 劑量(暴露12個月)時，患者繼續具有臨床益處，包括減少的脾和肝體積以及預測的DLco百分比的改善，浸潤性HRCT參數的持續清除和生物標記物的穩定化。

【0091】 殼三糖苷酶是一種已知的生物標記物，用於戈謝病中ERT期間的治療監測(Guo等, *J. Inherit. Metab. Dis.* 18(6):717-722 (1995))，和慢性炎性疾病的標記物，其在奧利普酶 α 治療期間穩定下降(Boot等, *Clin Chim Acta* 411(1-2):31-36 (2010))。溶血-神經髓磷脂為神經髓磷脂的脫鹽形式，其在DBS中降低，這表明作為生物標記物用於監測由隨著患者經歷神經髓磷脂的削減，然後是在長期治療期間穩定性的穩定下降而反映的ERT結果的效用。溶血-神經髓磷脂在來自患有慢性內臟ASMD的患者的DBS中升高為約5倍(Chuang *Mol. Genet. Metab.* 111(2):209-211 (2014))。

【0092】 此奧利普酶 α 的開放標籤延伸研究證明：用奧利普酶 α 治療30個月是良好耐受的和臨床上有效的。

序列表

<110> 法商賽諾菲公司
<120> 酸性神經髓磷脂酶缺乏症病患異常骨狀況之治療
<130> 022548.TW047
<140>
<141>
<150> EP 17306720.8
<151> 2017-12-07
<150> 62/549,732
<151> 2017-08-24
<160> 4
<170> PatentIn version 3.5
<210> 1
<211> 627
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列說明:合成多肽

<400> 1
Met Ala Arg Tyr Gly Ala Ser Leu Arg Gln Ser Cys Pro Arg Ser Gly
1 5 10 15

Arg Glu Gln Gly Gln Asp Gly Thr Ala Gly Ala Pro Gly Leu Leu Trp
 20 25 30

Met Gly Leu Ala Leu Ala Leu Ala Leu Ala Leu Ala Leu Ser Asp Ser
 35 40 45

Arg Val Leu Trp Ala Pro Ala Glu Ala His Pro Leu Ser Pro Gln Gly
 50 55 60

His Pro Ala Arg Leu His Arg Ile Val Pro Arg Leu Arg Asp Val Phe
65 70 75 80

Gly Trp Gly Asn Leu Thr Cys Pro Ile Cys Lys Gly Leu Phe Thr Ala
 85 90 95

Ile Asn Leu Gly Leu Lys Lys Glu Pro Asn Val Ala Arg Val Gly Ser
 100 105 110

Val	Ala	Ile	Lys	Leu	Cys	Asn	Leu	Leu	Lys	Ile	Ala	Pro	Pro	Ala	Val
		115					120					125			
Cys	Gln	Ser	Ile	Val	His	Leu	Phe	Glu	Asp	Asp	Met	Val	Glu	Val	Trp
	130					135					140				
Arg	Arg	Ser	Val	Leu	Ser	Pro	Ser	Glu	Ala	Cys	Gly	Leu	Leu	Leu	Gly
145					150					155					160
Ser	Thr	Cys	Gly	His	Trp	Asp	Ile	Phe	Ser	Ser	Trp	Asn	Ile	Ser	Leu
				165					170					175	
Pro	Thr	Val	Pro	Lys	Pro	Pro	Pro	Lys	Pro	Pro	Ser	Pro	Pro	Ala	Pro
			180					185						190	
Gly	Ala	Pro	Val	Ser	Arg	Ile	Leu	Phe	Leu	Thr	Asp	Leu	His	Trp	Asp
		195					200					205			
His	Asp	Tyr	Leu	Glu	Gly	Thr	Asp	Pro	Asp	Cys	Ala	Asp	Pro	Leu	Cys
	210					215					220				
Cys	Arg	Arg	Gly	Ser	Gly	Leu	Pro	Pro	Ala	Ser	Arg	Pro	Gly	Ala	Gly
225					230					235					240
Tyr	Trp	Gly	Glu	Tyr	Ser	Lys	Cys	Asp	Leu	Pro	Leu	Arg	Thr	Leu	Glu
				245					250					255	
Ser	Leu	Leu	Ser	Gly	Leu	Gly	Pro	Ala	Gly	Pro	Phe	Asp	Met	Val	Tyr
			260					265					270		
Trp	Thr	Gly	Asp	Ile	Pro	Ala	His	Asp	Val	Trp	His	Gln	Thr	Arg	Gln
		275					280					285			
Asp	Gln	Leu	Arg	Ala	Leu	Thr	Thr	Val	Thr	Ala	Leu	Val	Arg	Lys	Phe
	290					295					300				
Leu	Gly	Pro	Val	Pro	Val	Tyr	Pro	Ala	Val	Gly	Asn	His	Glu	Ser	Thr
305					310					315					320
Pro	Val	Asn	Ser	Phe	Pro	Pro	Pro	Phe	Ile	Glu	Gly	Asn	His	Ser	Ser
				325					330					335	

Arg Trp Leu Tyr Glu Ala Met Ala Lys Ala Trp Glu Pro Trp Leu Pro
340 345 350

Ala Glu Ala Leu Arg Thr Leu Arg Ile Gly Gly Phe Tyr Ala Leu Ser
355 360 365

Pro Tyr Pro Gly Leu Arg Leu Ile Ser Leu Asn Met Asn Phe Cys Ser
370 375 380

Arg Glu Asn Phe Trp Leu Leu Ile Asn Ser Thr Asp Pro Ala Gly Gln
385 390 395 400

Leu Gln Trp Leu Val Gly Glu Leu Gln Ala Ala Glu Asp Arg Gly Asp
405 410 415

Lys Val His Ile Ile Gly His Ile Pro Pro Gly His Cys Leu Lys Ser
420 425 430

Trp Ser Trp Asn Tyr Tyr Arg Ile Val Ala Arg Tyr Glu Asn Thr Leu
435 440 445

Ala Ala Gln Phe Phe Gly His Thr His Val Asp Glu Phe Glu Val Phe
450 455 460

Tyr Asp Glu Glu Thr Leu Ser Arg Pro Leu Ala Val Ala Phe Leu Ala
465 470 475 480

Pro Ser Ala Thr Thr Tyr Ile Gly Leu Asn Pro Gly Tyr Arg Val Tyr
485 490 495

Gln Ile Asp Gly Asn Tyr Ser Gly Ser Ser His Val Val Leu Asp His
500 505 510

Glu Thr Tyr Ile Leu Asn Leu Thr Gln Ala Asn Ile Pro Gly Ala Ile
515 520 525

Pro His Trp Gln Leu Leu Tyr Arg Ala Arg Glu Thr Tyr Gly Leu Pro
530 535 540

Asn Thr Leu Pro Thr Ala Trp His Asn Leu Val Tyr Arg Met Arg Gly
545 550 555 560

Asp Met Gln Leu Phe Gln Thr Phe Trp Phe Leu Tyr His Lys Gly His
第3頁

565570575

Pro Pro Ser Glu Pro Cys Gly Thr Pro Cys Arg Leu Ala Thr Leu Cys
580585590

Ala Gln Leu Ser Ala Arg Ala Asp Ser Pro Ala Leu Cys Arg His Leu
595600605

Met Pro Asp Gly Ser Leu Pro Glu Ala Gln Ser Leu Trp Pro Arg Pro
610615620

Leu Phe Cys
625

<210> 2
<211> 570
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明:合成多肽

<400> 2

His Pro Leu Ser Pro Gln Gly His Pro Ala Arg Leu His Arg Ile Val
151015

Pro Arg Leu Arg Asp Val Phe Gly Trp Gly Asn Leu Thr Cys Pro Ile
202530

Cys Lys Gly Leu Phe Thr Ala Ile Asn Leu Gly Leu Lys Lys Glu Pro
354045

Asn Val Ala Arg Val Gly Ser Val Ala Ile Lys Leu Cys Asn Leu Leu
505560

Lys Ile Ala Pro Pro Ala Val Cys Gln Ser Ile Val His Leu Phe Glu
65707580

Asp Asp Met Val Glu Val Trp Arg Arg Ser Val Leu Ser Pro Ser Glu
859095

Ala Cys Gly Leu Leu Leu Gly Ser Thr Cys Gly His Trp Asp Ile Phe
100105110

Ser Ser Trp Asn Ile Ser Leu Pro Thr Val Pro Lys Pro Pro Pro Lys

115	120	125
Pro 130	Pro 135	Ser 140
Pro Ser Pro Pro Ala	Gly Ala Pro Val	Arg Ile Leu Phe
Leu 145	Trp 150	Leu 155
Thr Asp Leu His	Asp His Asp Tyr	Glu Gly Thr Asp Pro 160
Asp Cys Ala Asp	Pro 165	Leu Cys Cys Arg Arg Gly Ser Gly Leu Pro Pro 175
Ala Ser Arg Pro Gly Ala Gly Tyr Trp Gly Glu Tyr Ser Lys Cys Asp 190	180	185
Leu Pro Leu Arg Thr Leu Glu Ser Leu Leu Ser Gly Leu Gly Pro Ala 205	195	200
Gly Pro Phe Asp Met Val Tyr Trp Thr Gly Asp Ile Pro Ala His Asp 220	210	215
Val Trp His Gln Thr Arg Gln Asp Gln Leu Arg Ala Leu Thr Thr Val 240	225	230
Thr Ala Leu Val Arg Lys Phe Leu Gly Pro Val Pro Val Tyr Pro Ala 255	245	250
Val Gly Asn His Glu Ser Thr Pro Val Asn Ser Phe Pro Pro Pro Phe 270	260	265
Ile Glu Gly Asn His Ser Ser Arg Trp Leu Tyr Glu Ala Met Ala Lys 285	275	280
Ala Trp Glu Pro Trp Leu Pro Ala Glu Ala Leu Arg Thr Leu Arg Ile 300	290	295
Gly Gly Phe Tyr Ala Leu Ser Pro Tyr Pro Gly Leu Arg Leu Ile Ser 320	305	310
Leu Asn Met Asn Phe Cys Ser Arg Glu Asn Phe Trp Leu Leu Ile Asn 335	325	330
Ser Thr Asp Pro Ala Gly Gln Leu Gln Trp Leu Val Gly Glu Leu Gln 350	340	345

Ala Ala Glu Asp Arg Gly Asp Lys Val His Ile Ile Gly His Ile Pro
355 360 365

Pro Gly His Cys Leu Lys Ser Trp Ser Trp Asn Tyr Tyr Arg Ile Val
370 375 380

Ala Arg Tyr Glu Asn Thr Leu Ala Ala Gln Phe Phe Gly His Thr His
385 390 395 400

Val Asp Glu Phe Glu Val Phe Tyr Asp Glu Glu Thr Leu Ser Arg Pro
405 410 415

Leu Ala Val Ala Phe Leu Ala Pro Ser Ala Thr Thr Tyr Ile Gly Leu
420 425 430

Asn Pro Gly Tyr Arg Val Tyr Gln Ile Asp Gly Asn Tyr Ser Gly Ser
435 440 445

Ser His Val Val Leu Asp His Glu Thr Tyr Ile Leu Asn Leu Thr Gln
450 455 460

Ala Asn Ile Pro Gly Ala Ile Pro His Trp Gln Leu Leu Tyr Arg Ala
465 470 475 480

Arg Glu Thr Tyr Gly Leu Pro Asn Thr Leu Pro Thr Ala Trp His Asn
485 490 495

Leu Val Tyr Arg Met Arg Gly Asp Met Gln Leu Phe Gln Thr Phe Trp
500 505 510

Phe Leu Tyr His Lys Gly His Pro Pro Ser Glu Pro Cys Gly Thr Pro
515 520 525

Cys Arg Leu Ala Thr Leu Cys Ala Gln Leu Ser Ala Arg Ala Asp Ser
530 535 540

Pro Ala Leu Cys Arg His Leu Met Pro Asp Gly Ser Leu Pro Glu Ala
545 550 555 560

Gln Ser Leu Trp Pro Arg Pro Leu Phe Cys
565 570

<210> 3
 <211> 629
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 3

Met Pro Arg Tyr Gly Ala Ser Leu Arg Gln Ser Cys Pro Arg Ser Gly
 1 5 10 15

Arg Glu Gln Gly Gln Asp Gly Thr Ala Gly Ala Pro Gly Leu Leu Trp
 20 25 30

Met Gly Leu Val Leu Ala Leu Ala Leu Ala Leu Ala Leu Ser
 35 40 45

Asp Ser Arg Val Leu Trp Ala Pro Ala Glu Ala His Pro Leu Ser Pro
 50 55 60

Gln Gly His Pro Ala Arg Leu His Arg Ile Val Pro Arg Leu Arg Asp
 65 70 75 80

Val Phe Gly Trp Gly Asn Leu Thr Cys Pro Ile Cys Lys Gly Leu Phe
 85 90 95

Thr Ala Ile Asn Leu Gly Leu Lys Lys Glu Pro Asn Val Ala Arg Val
 100 105 110

Gly Ser Val Ala Ile Lys Leu Cys Asn Leu Leu Lys Ile Ala Pro Pro
 115 120 125

Ala Val Cys Gln Ser Ile Val His Leu Phe Glu Asp Asp Met Val Glu
 130 135 140

Val Trp Arg Arg Ser Val Leu Ser Pro Ser Glu Ala Cys Gly Leu Leu
 145 150 155 160

Leu Gly Ser Thr Cys Gly His Trp Asp Ile Phe Ser Ser Trp Asn Ile
 165 170 175

Ser Leu Pro Thr Val Pro Lys Pro Pro Pro Lys Pro Pro Ser Pro Pro
 180 185 190

Ala Pro Gly Ala Pro Val Ser Arg Ile Leu Phe Leu Thr Asp Leu His
 195 200 205

Trp Asp His Asp Tyr Leu Glu Gly Thr Asp Pro Asp Cys Ala Asp Pro
210 215 220

Leu Cys Cys Arg Arg Gly Ser Gly Leu Pro Pro Ala Ser Arg Pro Gly
225 230 235 240

Ala Gly Tyr Trp Gly Glu Tyr Ser Lys Cys Asp Leu Pro Leu Arg Thr
245 250 255

Leu Glu Ser Leu Leu Ser Gly Leu Gly Pro Ala Gly Pro Phe Asp Met
260 265 270

Val Tyr Trp Thr Gly Asp Ile Pro Ala His Asp Val Trp His Gln Thr
275 280 285

Arg Gln Asp Gln Leu Arg Ala Leu Thr Thr Val Thr Ala Leu Val Arg
290 295 300

Lys Phe Leu Gly Pro Val Pro Val Tyr Pro Ala Val Gly Asn His Glu
305 310 315 320

Ser Ile Pro Val Asn Ser Phe Pro Pro Pro Phe Ile Glu Gly Asn His
325 330 335

Ser Ser Arg Trp Leu Tyr Glu Ala Met Ala Lys Ala Trp Glu Pro Trp
340 345 350

Leu Pro Ala Glu Ala Leu Arg Thr Leu Arg Ile Gly Gly Phe Tyr Ala
355 360 365

Leu Ser Pro Tyr Pro Gly Leu Arg Leu Ile Ser Leu Asn Met Asn Phe
370 375 380

Cys Ser Arg Glu Asn Phe Trp Leu Leu Ile Asn Ser Thr Asp Pro Ala
385 390 395 400

Gly Gln Leu Gln Trp Leu Val Gly Glu Leu Gln Ala Ala Glu Asp Arg
405 410 415

Gly Asp Lys Val His Ile Ile Gly His Ile Pro Pro Gly His Cys Leu
420 425 430

Lys Ser Trp Ser Trp Asn Tyr Tyr Arg Ile Val Ala Arg Tyr Glu Asn
435 440 445

Thr Leu Ala Ala Gln Phe Phe Gly His Thr His Val Asp Glu Phe Glu
450 455 460

Val Phe Tyr Asp Glu Glu Thr Leu Ser Arg Pro Leu Ala Val Ala Phe
465 470 475 480

Leu Ala Pro Ser Ala Thr Thr Tyr Ile Gly Leu Asn Pro Gly Tyr Arg
485 490 495

Val Tyr Gln Ile Asp Gly Asn Tyr Ser Arg Ser Ser His Val Val Leu
500 505 510

Asp His Glu Thr Tyr Ile Leu Asn Leu Thr Gln Ala Asn Ile Pro Gly
515 520 525

Ala Ile Pro His Trp Gln Leu Leu Tyr Arg Ala Arg Glu Thr Tyr Gly
530 535 540

Leu Pro Asn Thr Leu Pro Thr Ala Trp His Asn Leu Val Tyr Arg Met
545 550 555 560

Arg Gly Asp Met Gln Leu Phe Gln Thr Phe Trp Phe Leu Tyr His Lys
565 570 575

Gly His Pro Pro Ser Glu Pro Cys Gly Thr Pro Cys Arg Leu Ala Thr
580 585 590

Leu Cys Ala Gln Leu Ser Ala Arg Ala Asp Ser Pro Ala Leu Cys Arg
595 600 605

His Leu Met Pro Asp Gly Ser Leu Pro Glu Ala Gln Ser Leu Trp Pro
610 615 620

Arg Pro Leu Phe Cys
625

<210> 4
<211> 629
<212> PRT
<213> 智人

<400> 4

Met Pro Arg Tyr Gly Ala Ser Leu Arg Gln Ser Cys Pro Arg Ser Gly
1 5 10 15

Arg Glu Gln Gly Gln Asp Gly Thr Ala Gly Ala Pro Gly Leu Leu Trp
20 25 30

Met Gly Leu Val Leu Ala Leu Ala Leu Ala Leu Ala Leu Ser
35 40 45

Asp Ser Arg Val Leu Trp Ala Pro Ala Glu Ala His Pro Leu Ser Pro
50 55 60

Gln Gly His Pro Ala Arg Leu His Arg Ile Val Pro Arg Leu Arg Asp
65 70 75 80

Val Phe Gly Trp Gly Asn Leu Thr Cys Pro Ile Cys Lys Gly Leu Phe
85 90 95

Thr Ala Ile Asn Leu Gly Leu Lys Lys Glu Pro Asn Val Ala Arg Val
100 105 110

Gly Ser Val Ala Ile Lys Leu Cys Asn Leu Leu Lys Ile Ala Pro Pro
115 120 125

Ala Val Cys Gln Ser Ile Val His Leu Phe Glu Asp Asp Met Val Glu
130 135 140

Val Trp Arg Arg Ser Val Leu Ser Pro Ser Glu Ala Cys Gly Leu Leu
145 150 155 160

Leu Gly Ser Thr Cys Gly His Trp Asp Ile Phe Ser Ser Trp Asn Ile
165 170 175

Ser Leu Pro Thr Val Pro Lys Pro Pro Pro Lys Pro Pro Ser Pro Pro
180 185 190

Ala Pro Gly Ala Pro Val Ser Arg Ile Leu Phe Leu Thr Asp Leu His
195 200 205

Trp Asp His Asp Tyr Leu Glu Gly Thr Asp Pro Asp Cys Ala Asp Pro
210 215 220

Leu Cys Cys Arg Arg Gly Ser Gly Leu Pro Pro Ala Ser Arg Pro Gly
225 230 235 240

Ala Gly Tyr Trp Gly Glu Tyr Ser Lys Cys Asp Leu Pro Leu Arg Thr
245 250 255

Leu Glu Ser Leu Leu Ser Gly Leu Gly Pro Ala Gly Pro Phe Asp Met
260 265 270

Val Tyr Trp Thr Gly Asp Ile Pro Ala His Asp Val Trp His Gln Thr
275 280 285

Arg Gln Asp Gln Leu Arg Ala Leu Thr Thr Val Thr Ala Leu Val Arg
290 295 300

Lys Phe Leu Gly Pro Val Pro Val Tyr Pro Ala Val Gly Asn His Glu
305 310 315 320

Ser Thr Pro Val Asn Ser Phe Pro Pro Pro Phe Ile Glu Gly Asn His
325 330 335

Ser Ser Arg Trp Leu Tyr Glu Ala Met Ala Lys Ala Trp Glu Pro Trp
340 345 350

Leu Pro Ala Glu Ala Leu Arg Thr Leu Arg Ile Gly Gly Phe Tyr Ala
355 360 365

Leu Ser Pro Tyr Pro Gly Leu Arg Leu Ile Ser Leu Asn Met Asn Phe
370 375 380

Cys Ser Arg Glu Asn Phe Trp Leu Leu Ile Asn Ser Thr Asp Pro Ala
385 390 395 400

Gly Gln Leu Gln Trp Leu Val Gly Glu Leu Gln Ala Ala Glu Asp Arg
405 410 415

Gly Asp Lys Val His Ile Ile Gly His Ile Pro Pro Gly His Cys Leu
420 425 430

Lys Ser Trp Ser Trp Asn Tyr Tyr Arg Ile Val Ala Arg Tyr Glu Asn
435 440 445

Thr Leu Ala Ala Gln Phe Phe Gly His Thr His Val Asp Glu Phe Glu
450 455 460

Val Phe Tyr Asp Glu Glu Thr Leu Ser Arg Pro Leu Ala Val Ala Phe
465 470 475 480

Leu Ala Pro Ser Ala Thr Thr Tyr Ile Gly Leu Asn Pro Gly Tyr Arg
485 490 495

Val Tyr Gln Ile Asp Gly Asn Tyr Ser Gly Ser Ser His Val Val Leu
500 505 510

Asp His Glu Thr Tyr Ile Leu Asn Leu Thr Gln Ala Asn Ile Pro Gly
515 520 525

Ala Ile Pro His Trp Gln Leu Leu Tyr Arg Ala Arg Glu Thr Tyr Gly
530 535 540

Leu Pro Asn Thr Leu Pro Thr Ala Trp His Asn Leu Val Tyr Arg Met
545 550 555 560

Arg Gly Asp Met Gln Leu Phe Gln Thr Phe Trp Phe Leu Tyr His Lys
565 570 575

Gly His Pro Pro Ser Glu Pro Cys Gly Thr Pro Cys Arg Leu Ala Thr
580 585 590

Leu Cys Ala Gln Leu Ser Ala Arg Ala Asp Ser Pro Ala Leu Cys Arg
595 600 605

His Leu Met Pro Asp Gly Ser Leu Pro Glu Ala Gln Ser Leu Trp Pro
610 615 620

Arg Pro Leu Phe Cys
625

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種重組人類酸性神經髓磷脂酶(rhASM)用於製備治療患有酸性神經髓磷脂酶缺乏症(ASMD)的患者中的異常骨狀況的藥物的用途，其中：

該rhASM係以多個劑量投予；以及

該患者的骨指標(bone indicator)經測量並與該患者在投予rhASM之前的基線骨指標進行比較，和

其中在所述多個劑量的rhASM之後該患者的所述骨指標改善或沒有惡化。

【請求項2】如請求項1的用途，其中所述骨指標是骨礦物質密度(BMD)。

【請求項3】如請求項1的用途，其中所述骨指標是骨髓負擔(BMB)。

【請求項4】如請求項1的用途，其中所述骨指標是骨成熟。

【請求項5】如請求項1-4中任一項的用途，其中所述異常骨狀況是骨量稀少或骨質疏鬆症。

【請求項6】一種重組人類酸性神經髓磷脂酶(rhASM)用於製備在有其需要的酸性神經髓磷脂酶缺乏症患者中減少骨髓負擔(BMB)的藥物的用途，其中：

該rhASM係以多個劑量投予；以及

所述患者的BMB經測量並與該患者在投予rhASM之前的基線BMB進行比較，以及其中

於投予多個劑量的rhASM後，所述患者的BMB減少。

【請求項7】一種重組人類酸性神經髓磷脂酶(rhASM)用於製備在有其需要的酸性神經髓磷脂酶缺乏症患者中改善骨礦物質密度(BMD)的藥物的用途，其中：

該rhASM係以多個劑量投予；以及

所述患者的BMD經測量並與該患者在投予rhASM之前的基線BMD進行比較，以及其中

確定所述患者的BMD，和

於投予多個劑量的rhASM後，所述患者的BMD改善。

【請求項8】 一種重組人類酸性神經髓磷脂酶(rhASM)用於製備在有其需要的酸性神經髓磷脂酶缺乏症患者中減少骨髓負擔(BMB)的藥物的用途，其中：

該rhASM係以多個劑量投予沒有正在接受雙膦酸鹽治療的酸性神經髓磷脂酶缺乏症的患者；以及

所述患者的BMB經測量並與該患者在投予rhASM之前的基線BMB進行比較，以及

其中

於投予多個劑量的rhASM後，所述患者的BMB減少。

【請求項9】 一種重組人類酸性神經髓磷脂酶(rhASM)用於製備在有其需要的酸性神經髓磷脂酶缺乏症患者中改善骨礦物質密度(BMD)的藥物的用途，其中：

該rhASM係以多個劑量投予沒有正在接受雙膦酸鹽治療的酸性神經髓磷脂酶缺乏症的患者；以及

所述患者的BMD經測量並與該患者在投予rhASM之前的基線BMD進行比較，以及

於投予多個劑量的rhASM後，所述患者的BMD改善。

【請求項10】 一種重組人類酸性神經髓磷脂酶(rhASM)用於製備在有其需要的酸性神經髓磷脂酶缺乏症(ASMD)患者中改善骨成熟的藥物的用途，其中：

該rhASM係以多個劑量投予；以及

該患者的骨成熟指標經測量並與該患者在投予rhASM之前的基線骨成熟指標進行比較，和

其中於投予多個劑量的rhASM後，所述患者的骨成熟改善。

【請求項11】 如請求項1-4和6-10中任一項的用途，其中所述多個劑量係在六到三十個月的時間內投予於所述患者。

【請求項12】 如請求項1-4和6-10中任一項的用途，其中所述患者患有B型尼曼-皮克病(Niemann-Pick Disease)。

【請求項13】 如請求項1-4和6-10中任一項的用途，其中所述患者患有A/B型尼曼-皮克病。

【請求項14】 如請求項1-4和6-10中任一項的用途，其中所述患者是成年患者。

【請求項15】 如請求項1-4和6-10中任一項的用途，其中所述患者是兒科的患者。

【請求項16】 如請求項1-4和6-10中任一項的用途，其中所述多個劑量的前兩劑或更多劑是遞增劑量並係以連續增加的量投予。

【請求項17】 如請求項16的用途，其中在所述遞增劑量後的劑量是維持劑量並係以與最後遞增劑量相同或更少的量投予。

【請求項18】 如請求項16的用途，其中第一劑量為0.1 mg/kg的量且所述患者為兒科的患者。

【請求項19】 如請求項16的用途，其中所述第一劑量為0.1 mg/kg的量且所述患者是成年患者。

【請求項20】 如請求項17的用途，其中所述最高維持劑量為0.3 mg/kg至3mg/kg的量。

【請求項21】 如請求項17的用途，其中所述最高維持劑量為1 mg/kg的量。

【請求項22】 如請求項17的用途，其中所述最高維持劑量為2 mg/kg的量。

【請求項23】 如請求項17的用途，其中所述最高維持劑量為3 mg/kg的量。

【請求項24】 如請求項17的用途，其中所述最高維持劑量為由所述患者耐受的最高劑量。

【請求項25】 如請求項16的用途，其中所述遞增劑量係以0.1 mg/kg、0.3 mg/kg、0.3 mg/kg、0.6 mg/kg、0.6 mg/kg、1.0 mg/kg、2.0 mg/kg和3.0 mg/kg的順序投予。

【請求項26】 如請求項1-4和6-10中任一項的用途，其中所述多個劑量係以每2週的時間間隔投予。

【請求項27】 如請求項1-4和6-10中任一項的用途，其中所述多個劑量係通過靜脈注射投予。

【請求項28】 如請求項1-4和6-10中任一項的用途，其中所述rhASM為奧利普酶 α (olipudase alfa)。

圖式

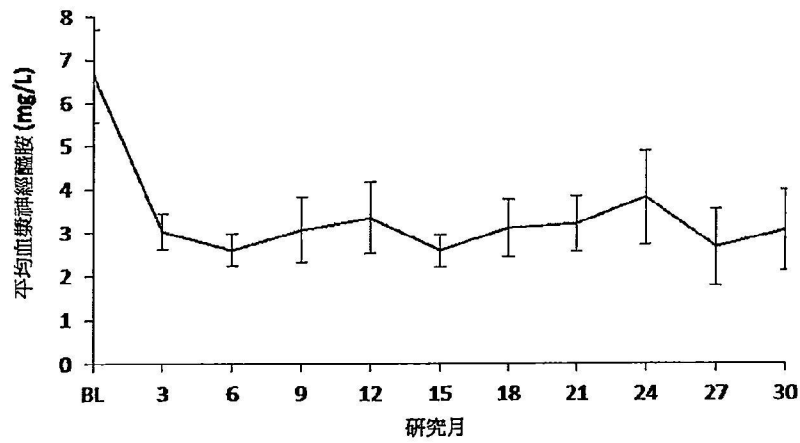


圖 1A

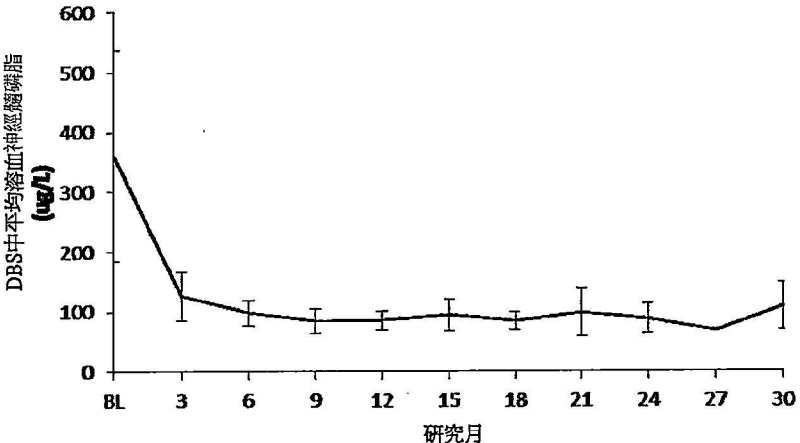


圖 1B

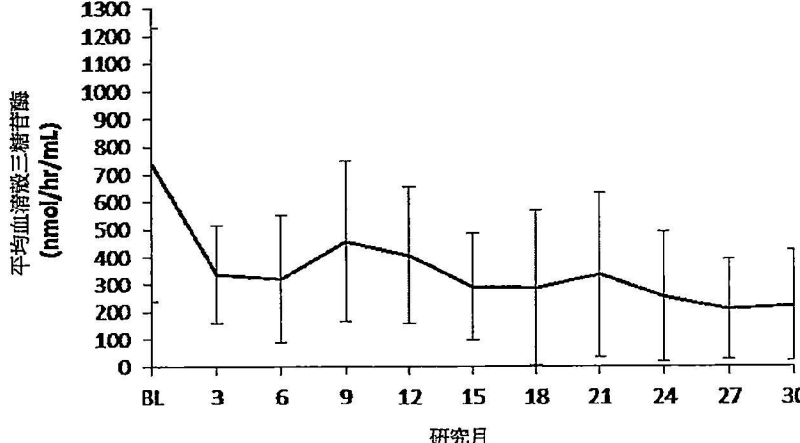


圖 1C

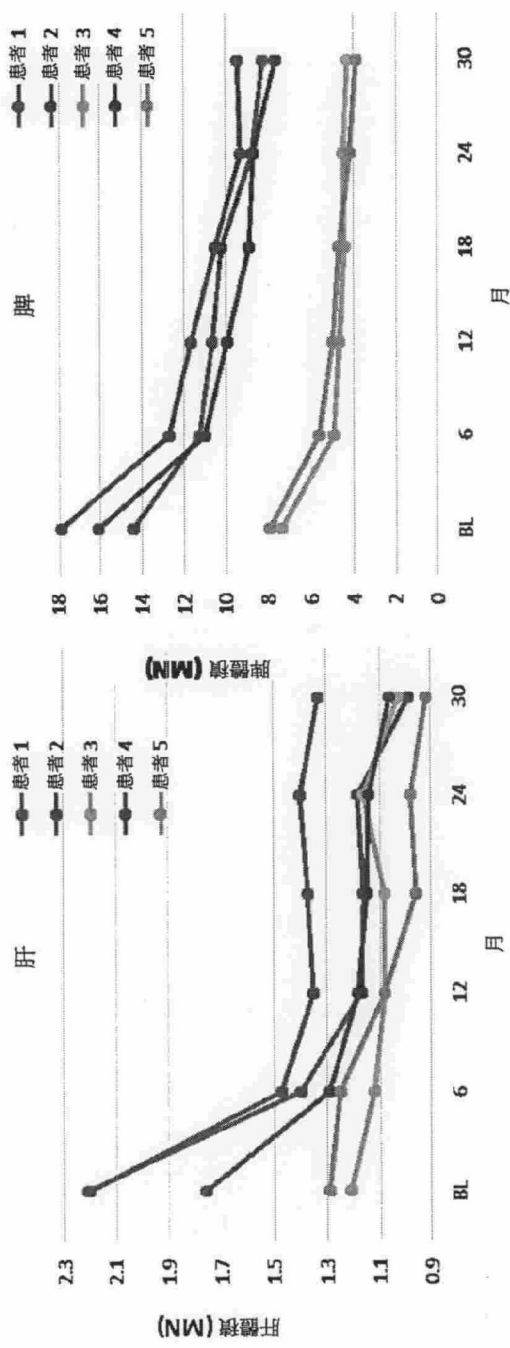


圖 2A

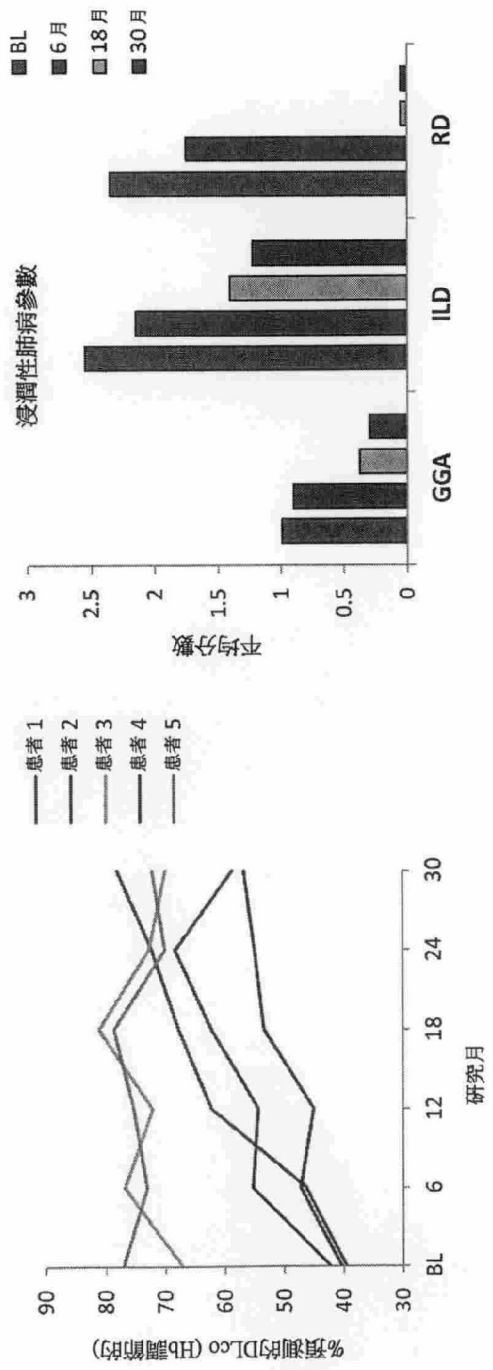


圖 2B

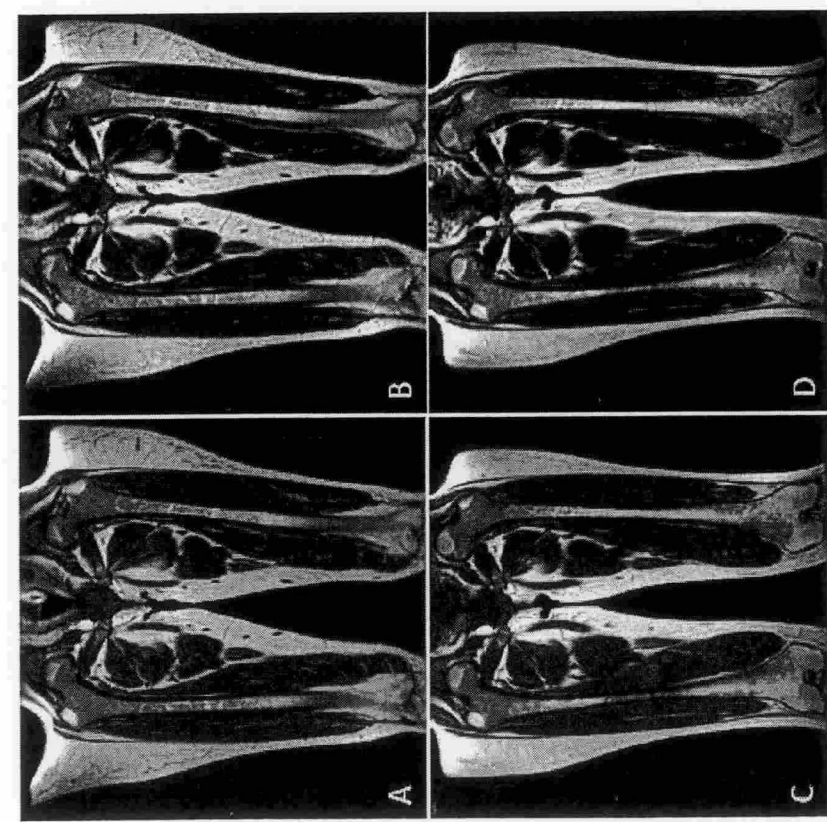


圖 3A

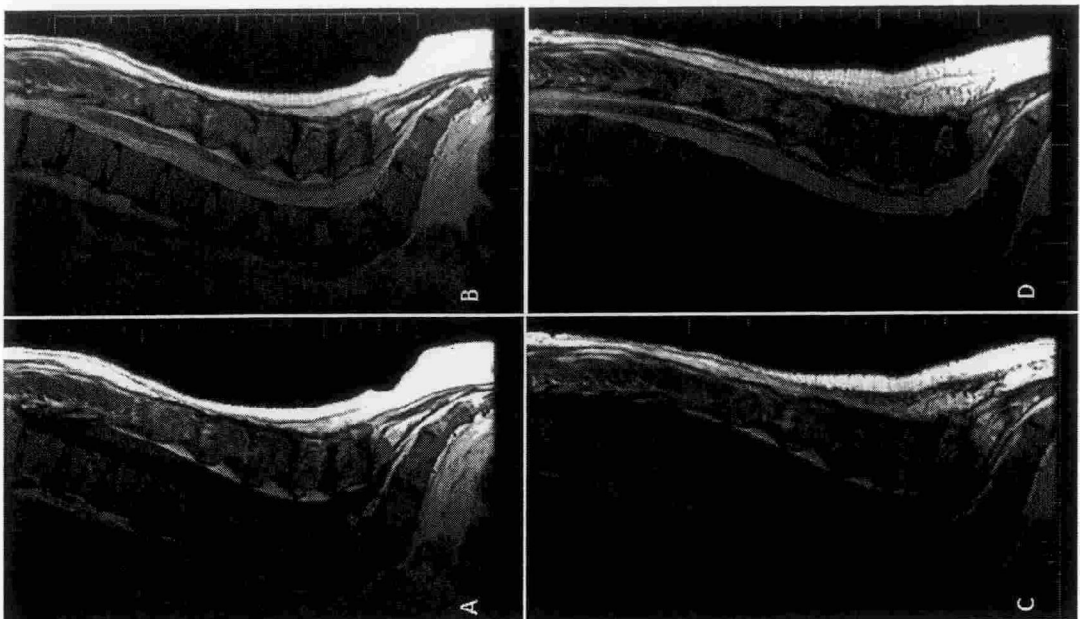


圖 3B

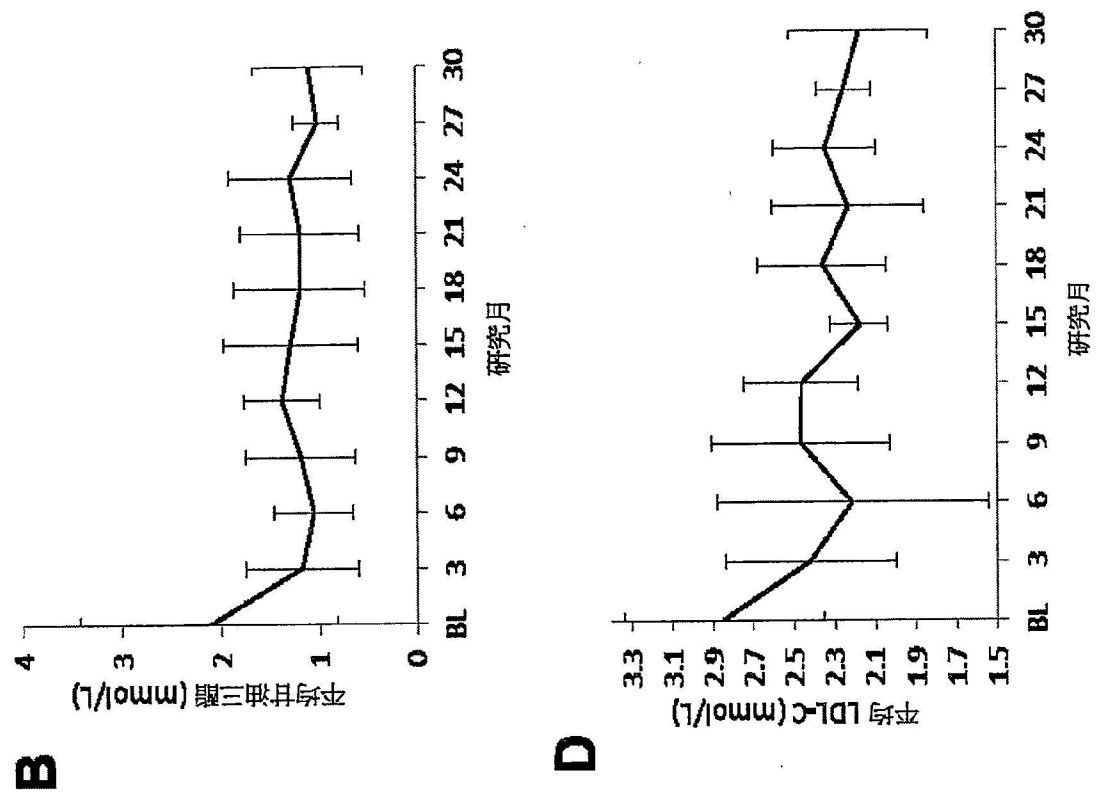


圖 4A-D