

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6868561号
(P6868561)

(45) 発行日 令和3年5月12日(2021.5.12)

(24) 登録日 令和3年4月14日(2021.4.14)

(51) Int.Cl.	F 1
A 61 K 38/46	(2006.01)
A 61 K 33/06	(2006.01)
A 61 K 31/59	(2006.01)
A 61 K 38/29	(2006.01)
A 61 P 3/00	(2006.01)

A 61 K	38/46	A 61 K	38/46	Z N A
A 61 K	33/06	A 61 K	33/06	
A 61 K	31/59	A 61 K	31/59	
A 61 K	38/29	A 61 K	38/29	
A 61 P	3/00	A 61 P	3/00	

請求項の数 5 (全 22 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2017-539393 (P2017-539393)
 (86) (22) 出願日 平成28年1月28日 (2016.1.28)
 (65) 公表番号 特表2018-508489 (P2018-508489A)
 (43) 公表日 平成30年3月29日 (2018.3.29)
 (86) 國際出願番号 PCT/US2016/015366
 (87) 國際公開番号 WO2016/123342
 (87) 國際公開日 平成28年8月4日 (2016.8.4)
 審査請求日 平成30年10月31日 (2018.10.31)
 (31) 優先権主張番号 62/108,669
 (32) 優先日 平成27年1月28日 (2015.1.28)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国(US)

(73) 特許権者 503102674
 アレクシオン ファーマシューティカルズ
 , インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02
 210, ボストン, シーポート ブー
 ルバード 121
 (74) 代理人 110002572
 特許業務法人平木国際特許事務所
 (72) 発明者 オドルルジン, タチアナ
 アメリカ合衆国 02446 マサチュー
 セツツ州, ブルックライン, ナンバー5エ
 ー, ビーコン ストリート 1070

審査官 新熊 忠信

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】アルカリホスファターゼ欠損を有する被験者を治療する方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

治療有効量の、配列番号1のアミノ酸配列を含むアスホターゼアルファを含む、ヒト被験者におけるアルカリホスファターゼ欠損の治療における使用のための組成物であって、前記被験者は約8.5mg/dL未満の血清カルシウム濃度を有すると判定され、前記使用が前記被験者において血清カルシウム濃度を約8.5mg/dL以上に増加させるカルシウム、ビタミンDおよび副甲状腺ホルモンから選択される治療剤を前記アスホターゼアルファと併用投与することを含む、組成物。

【請求項 2】

前記アルカリホスファターゼ欠損が低ホスファターゼ症である、請求項1に記載の使用のための組成物。

【請求項 3】

前記カルシウムがグルコン酸カルシウム、塩化カルシウム、またはアルギン酸カルシウムである、請求項1又は2に記載の使用のための組成物。

【請求項 4】

前記使用が、治療有効量のビタミンD、ビタミンK、ビタミンBおよび複合ビタミン剤の少なくとも1つを投与することをさらに含む、請求項2に記載の使用のための組成物。

【請求項 5】

前記ビタミンD、ビタミンK、ビタミンBおよび複合ビタミン剤の少なくとも1つが、経口、筋肉内または静脈内投与のために製剤化されている、請求項4に記載の使用のため

10

20

の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本願は、2015年1月28日に出願された米国仮特許出願第62/108,689号明細書に対する優先権を主張し、その内容はその全体が本明細書で参照により援用される。

【背景技術】

【0002】

酵素置換療法（ERT）の実施は、アルカリホスファターゼ（AP）活性の欠損を有する被験者を治療するのに奏効している。特に、かかる治療法は、AP活性の欠損に関連した骨石灰化障害を治療するのに有用である。例えば、血清カルシウムおよびリン酸濃度、および循環副甲状腺ホルモン（PTH）を含む幾つかの因子が、骨の形成および再吸収を調節する。例えば、FGF23は、腎臓でのリン酸排泄を促進し、かつ循環レベルの活性ビタミンDを低減する（カルシウムの腸管吸収を低減する）、カルシウムおよびリン酸の恒常性の調節に寄与するホルモンである。骨形成の正常化をもたらすERT治療は、潜在的には、骨石灰化因子（例えば血清カルシウムおよびリン酸）を調節するかまたはそれにより調節される調節因子（例として、例えば副甲状腺ホルモン（PTH）などのホルモン、またはビタミンD）の産生に影響を及ぼし得る。

【0003】

PTHは、「副甲状腺ホルモン」または「パラチリン」とも称され、84アミノ酸ポリペプチド（9.4kDa）として副甲状腺により分泌される。PTHは、副甲状腺ホルモン1受容体（高レベルの副甲状腺ホルモン1受容体は骨と腎臓に存在する）および副甲状腺ホルモン2受容体（高レベルの副甲状腺ホルモン2受容体は中枢神経系、脾臓、精巣、および胎盤に存在する）に対して作用することにより、血液中のカルシウム（Ca²⁺）の濃度を増加させるように作用する。

【0004】

PTHは、骨の再吸収および形成を調節する主要な遺伝子の発現の調節によって骨再吸収に影響することにより、骨内に含まれる大型貯蔵所からのカルシウムの放出を高める。骨再吸収は、PTHにより間接的に刺激される、破骨細胞による骨の正常な分解である。破骨細胞がPTHに対する受容体を有しないことから、PTHの効果は間接的であり、骨の生成に関与する細胞である骨芽細胞の刺激を介する。PTHは、核内因子Bリガンドの受容体アクチベーター（RANKL）の骨芽細胞での発現を増強し、オステオプロテジエリン（OPG）の発現を阻害する。OPGはRANKLに結合し、それがRANKLに対する受容体であるRANKと相互作用することを遮断する。（過剰なRANKLへの結合にとって利用可能なOPGの量の減少によって促進される）RANKLのRANKへの結合は、破骨細胞の多核破骨細胞への融合を刺激し、最終的に骨再吸収をもたらす。それ故、OPG発現の下方制御により、破骨細胞による骨再吸収が促進される。

【0005】

PTHの産生（PTHの合成）は、高血清レベルのリン酸（慢性腎疾患の後期段階に存在することが多い）で、PTHの安定性を促進することによる副甲状腺におけるPTH合成に対する血清リン酸の直接的効果により刺激される。PTHは、リン酸およびカルシウムの恒常性に影響する（尿を通じた減少を促進する）腎臓におけるリン酸塩の保持に悪影響を及ぼす。PTHに対する腎応答におけるこのシグナル伝達経路の重要性は、偽性副甲状腺機能低下症を有する患者におけるPTH受容体Gタンパク質サブユニット（G_sα1p_ha）欠損という欠損に関連したPTHに対する腎抵抗によって強調される。PTHはまた、腸および骨から血中へのリン酸の取り込みを促進する。骨では、リン酸よりわずかに多いカルシウムが、骨の破壊から放出される。腸管では、カルシウムとリン酸の双方の吸収が活性型ビタミンDの増加によって媒介される。リン酸の吸収は、カルシウムの場合のように、ビタミンDに依存するものではない。副甲状腺からのPTH放出の最終結果は

10

20

30

40

50

、リン酸の血清濃度のわずかな正味の低下である。

【0006】

P T Hの分泌は、主に血清 Ca^{2+} により負のフィードバックを通じて制御される。カルシウムレベルの増加はP T Hの分泌を低減する一方、レベルの低下はP T Hの分泌を増加させる。 Ca^{2+} が上昇すると、副甲状腺細胞上に位置するカルシウム感知受容体が活性化される。Gタンパク質に共役されたカルシウム受容体は細胞外カルシウムに結合し、脳、心臓、皮膚、胃、傍濾胞細胞（「C細胞」）、および他の組織に分布される多種多様な細胞の表面上に見出される。副甲状腺では、高濃度の細胞外カルシウムが、ホスホリバーゼCの作用を通じてGq Gタンパク質に共役されたカスケードの活性化をもたらす。これはホスファチジルイノシトール4,5-二リン酸（PIP2）を加水分解して、細胞内メッセンジャーIP3およびジアシルグリセロール（DAG）を遊離させる。最終的に、これら2つのメッセンジャーは、細胞内貯蔵所からのカルシウムの放出とそれに続く細胞質空間への細胞外カルシウムのフラックスをもたらす。高い細胞外カルシウムのこのシグナル伝達結果の効果により、副甲状腺における貯蔵顆粒からの予め形成されたP T Hの分泌を阻害する細胞内カルシウム濃度が得られる。大部分の分泌型細胞が用いる機構と対照的に、カルシウムは小胞融合とP T Hの放出を阻害する。

【0007】

分泌用に利用可能なP T Hの量に影響するさらなる機構は、例えば貯蔵顆粒におけるカルシウム感受性プロテアーゼを含む。活性化がP T H（1~84）のカルボキシル末端断片の切断を増強する時、貯蔵顆粒中のインタクトなP T Hの量がさらに低減される。

【0008】

P T Hはまた、25-ヒドロキシコレカルシフェロールを腎臓におけるビタミンDの活性型である1,25-ジヒドロキシコレカルシフェロールに変換する、1--ヒドロキシラーゼ酵素の活性を増強する。ビタミンDは、P T H遺伝子の転写を低下させる。それ故、ビタミンD欠損（慢性腎障害において見られることが多い）は、P T H産生の増加を引き起こす。FGF23は、副甲状腺機能のもう一つの調節剤であり、経口リン酸摂取量の増加や他の因子に応答して骨細胞または骨芽細胞により分泌される。それは腎臓で作用し、腎臓におけるリン酸の発現トランスポーターを低減し、リン酸保持を低下させる。慢性腎疾患の初期段階では、FGF23のレベルが増加し、リン酸の尿中排泄を促進しやすくなる。慢性腎障害におけるFGF23の上昇により、ビタミンD1--ヒドロキシラーゼ酵素の活性が低下し、ビタミンDの活性型の産生が低下する結果になる。腸管におけるカルシウムの吸収は、活性型ビタミンDにおける増加によって媒介される。血清低カルシウム血症をまねく腸管カルシウム吸収の低下は、副甲状腺からのP T Hの産生/放出に対する強力な負のフィードバックをもたらさず、副甲状腺からのP T Hの放出増加を引き起こす。FGF23は同様に、P T Hの分泌を直接的に阻害すると思われる。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

A P置換療法は、例えば適切な骨形成における複雑な経路の一部を置き換えることから、その経路をさらに特徴づけ、また治療効果を示す分析物を同定する必要がある。かかる探索により、治療有効性を示すことができ、かつ/またはA P置換療法の結果として必要となり得るさらなる治療法を同定することができる。

【課題を解決するための手段】

【0010】

本明細書に記載されるのは、アルカリホスファターゼ欠損を有する被験者を治療するための方法であって、1つ以上の分析物を監視し、さらなる治療処置および方法を決定するステップを含む、方法である。

【0011】

本開示の一態様は、アルカリホスファターゼ欠損を有する被験者を治療する方法であって、アルカリホスファターゼを治療有効量で投与するステップと；1つ以上の骨石灰化分

析物の濃度を監視するステップと、を含む、方法を対象とし、ここで1つ以上の骨石灰化分析物の濃度を監視することは、被験者における少なくとも1つのさらなる治療計画を意味する。本明細書に記載のすべての方法における非限定例は、1つ以上の骨石灰化分析物がビタミンD、Ca²⁺、および副甲状腺ホルモンからなる群から選択される少なくとも1つの分析物であることを提示する。本明細書に記載のすべての方法における非限定例は、アルカリホスファターゼ欠損が低ホスファターゼ症であることを提示する。本明細書に記載のすべての方法における非限定例は、アルカリホスファターゼが、組織非特異的アルカリホスファターゼ、胎盤アルカリホスファターゼ、腸管アルカリホスファターゼ、改変アルカリホスファターゼ、アルカリホスファターゼ部分を含む融合タンパク質、またはキメラアルカリホスファターゼであることを提示する。本明細書に記載のすべての方法における非限定例は、アルカリホスファターゼがアスホターゼアルファ(STRENSIQ(登録商標))であることを提示する(例えば、米国特許第7,763,712号明細書；国際公開第2005/103263号パンフレットを参照(双方はその全体が参照により本明細書中に援用される))。本明細書に記載のすべての方法における非限定例は、骨石灰化分析物がCa²⁺であることを提示する。本明細書に記載のすべての方法における非限定例は、被験者が低カルシウム血症であることが判定されることを提示し、その方法は、被験者を治療有効量のグルコン酸カルシウム、塩化カルシウム、アルギン酸カルシウム、ビタミンDもしくはビタミンD類似体または副甲状腺ホルモンまたはその断片もしくは類似体で治療するステップをさらに含む。本明細書に記載のすべての方法における非限定例は、被験者が高カルシウム血症であることが判定されることを提示し、その方法は、被験者を治療有効量のカルシウム模倣薬、ビスホスホネート、プレドニゾン、静脈内輸液、または利尿剤で治療するステップをさらに含む。本明細書に記載のすべての方法における非限定例は、カルシウム模倣薬がシナカルセトであることを提示する。本明細書に記載のすべての方法における非限定例は、骨石灰化分析物が副甲状腺ホルモンであることを提示する。本明細書に記載のすべての方法における非限定例は、被験者が統計学的に有意に低い血清濃度の副甲状腺ホルモンを有することを提示し、その方法は、カルシウムまたはビタミンDを治療有効量で投与するステップをさらに含む。本明細書に記載のすべての方法における非限定例は、被験者が統計学的に有意に高い血清濃度の副甲状腺ホルモンを有することを提示し、その方法は、被験者を、手術で、またはカルシウム模倣薬、副甲状腺ホルモンもしくはその類似体、もしくはビスホスホネートを治療有効量で投与することによって、治療するステップをさらに含む。本明細書に記載のすべての方法における非限定例は、カルシウム模倣薬がシナカルセトであることを提示する。本明細書に記載のすべての方法における非限定例は、骨石灰化分析物がビタミンDであることを提示する。本明細書に記載のすべての方法における非限定例は、被験者が統計学的に有意に低い血清濃度のビタミンDを有することを提示し、その方法はビタミンDまたはその類似体を治療有効量で投与するステップをさらに含む。

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1】疾患発症(HPP表現型)による血清PTHにおける平均の経時的な結果(インタクト、pmol/L)およびすべての臨床試験(N=71)における統合された安全性解析対象集団を示す。時間軸は週単位でのアスホターゼアルファによる治療期間を示す。「インタクト」は、完全長PTH(PTH断片でない)を示す。各時点での棒は95%信頼区間を示す。

【図2】リン酸における平均の経時的な臨床検査結果(mmol/L)を示す。時間軸は週単位でのアスホターゼアルファによる治療期間を指す。各時点での棒は95%信頼区間を示す。

【図3】25-ヒドロキシビタミンDにおける平均の経時的な臨床検査結果(mmol/L)を示す。時間軸は週単位でのアスホターゼアルファによる治療期間を指す。各時点での棒は95%信頼区間を示す。

【図4】疾患発症によるカルシウムにおける平均の経時的な結果(mmol/L)および

全体的な安全性解析対象集団を示す。時間軸は週単位でのアスホターゼアルファによる治療期間を指す。各時点での棒は95%信頼区間を示す。

【図5】アスホターゼによる治療中の単一患者における参考範囲を伴うカルシウムレベル(上パネル)とPTHレベル(下パネル)を示す。

【図6】疾患発症(HPP表現型)による312週に至る血清PTHにおける平均の経時的な結果(インタクト、pmol/L)および全体的な安全性解析対象集団を示す。時間軸は週単位でのアスホターゼアルファによる治療期間を示す。「インタクト」は、完全長PTH(PTH断片でない)を示す。各時点での棒は95%信頼区間を示す。

【図7】リン酸における平均の312週に至る経時的な臨床検査結果(mmol/L)を示す。時間軸は週単位でのアスホターゼアルファによる治療期間を指す。各時点での棒は95%信頼区間を示す。 10

【図8】25-ヒドロキシビタミンDにおける平均の312週に至る経時的な臨床検査結果(mmol/L)を示す。時間軸は週単位でのアスホターゼアルファによる治療期間を指す。各時点での棒は95%信頼区間を示す。

【図9】疾患発症によるカルシウムにおける平均の312週に至る経時的な結果(mmol/L)および全体的な安全性解析対象集団を示す。時間軸は週単位でのアスホターゼアルファによる治療期間を指す。各時点での棒は95%信頼区間を示す。

【図10】図5の患者における治療週数の関数としてのカルシウムにおける患者値(mmol/L)およびPTHにおける患者値(pmol/L)を示す。垂直線は、3mg/kg/週の投与の開始および終了ならびに6mg/kg/週の投与の開始を示す。 20

【図11】アスホターゼアルファ単量体のアミノ酸配列(配列番号1)を示す。アスホターゼアルファは、サブユニット間のジスルフィド結合を伴う二量体として存在する。

【発明を実施するための形態】

【0013】

本明細書に記載されるのは、アルカリホスファターゼによる治療を必要とする被験者またはアルカリホスファターゼで治療中である被験者を監視し、さらに治療するための材料および方法である。さらなる分析物を監視することがさらなる治療計画を意味し得るという想定外の知見が、本明細書に記載の材料および方法につながった。特定の分析物は、例えば、低カルシウム血症、高カルシウム血症、骨粗鬆症、副甲状腺機能亢進症、およびビタミンD欠損に対するさらなる治療につなげることができる。 30

【0014】

本文書全体を通じて様々な定義が用いられる。大部分の用語は、当業者による用語に帰するような意味を有する。本文書内の下記または他の箇所のいずれかで詳細に定義される用語は、全体として本開示との関連で、また典型的には当業者によって理解されているものとして提供される意味を有する。例えば、本明細書で用いられるとき、単数形「a」、「a n」、および「t h e」は、その内容が特に明示されない限り、複数の参照を含む。特に定義されない限り、本明細書で用いられるすべての科学技術用語は、当業者によって共通に理解されている場合と同じ意味を有する。方法および材料は、本開示で用いられる場合に本明細書で説明され、当該技術分野で公知の他の好適な方法および材料もまた用いることができる。抵触する場合、定義を含む本明細書は制御対象になる。 40

【0015】

本明細書に記載の材料および方法は、アルカリホスファターゼ(AP)置換療法を必要とする被験者またはAP置換療法を受診中の被験者を監視し、さらに治療することに関する。用語「個体」、「被験者」、「宿主」および「患者」は交換可能に用いられ、診断、処置、または治療が所望される任意の被験者、特にヒトを指す。他の被験者は、ウシ、イヌ、ネコ、モルモット、ウサギ、ラット、マウス、ウマなどを含んでもよい。APは、種々の酵素を脱リン酸化することに関与し、少なくとも1つのアイソフォームは、骨の石灰化および形成に実質的に関与する。

【0016】

生殖系列APに加えて、ヒトの腸管(ALPI)、胎盤(ALPP)、組織非特異的な 50

もの（TNAP；肝臓／骨／腎臓APまたはALPLと称される場合がある）で少なくとも3つのAPが存在する。TNAPは、細胞外で活性がある、膜に係留されたAPである。TNAPにおける欠損は、例えば、3つのリン酸化合物基質：無機ピロリン酸（PPi）、ホスホエタノールアミン（PEA）およびピリドキサール-5'-リン酸（PLP）の血中および／または尿中レベルの上昇をもたらす（Whyte, M., Endocrinol. Rev., 15: 439-61, 1994）。TNAPは、主に血清PPiレベルを調節すること（骨マトリックスにおけるヒドロキシアパタイト結晶沈着の主要な阻害剤）に関与し、それ故、骨の形成および石化にとって重要である。TNAPにおける遺伝的欠陥は、例えば、骨石灰化が低いまたは低下した症状、例えば低ホスファターゼ症（HPP）に関連した疾患、状態、または障害につながる。

10

【0017】

TNAP活性における異常は、種々の疾患、障害、および症状をもたらし得る。例えば低ホスファターゼ症（HPP）は、くる病または骨軟化症のまれな遺伝的形態である（Whyte, M. "Hypophosphatasia," In The Metabolic and Molecular Bases of Disease, 8th ed., 5313-29, Eds C. Scriver, A. Beaudet, W. Sly, D. Valle & B. Vogelstein. New York: McGraw-Hill Book Company, 2001）。HPPは、TNAPをコードする遺伝子（ALPL）における機能欠失型突然変異によって引き起こされる（Weiss, M. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85: 7666-9, 1988；Henthorn, P. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 9924-8, 1992；Henthorn, P. & Whyte, M., Clin. Chem., 38: 2501-5, 1992；Zurutuza, L. et al., Hum. Mol. Genet., 8: 1039-46, 1999）。生化学的特質は、血清中の亜正常なAP活性である（低ホスファターゼ血症）。

20

【0018】

HPPは、極めてまれな遺伝性障害であり、それによりTNAP活性は罹患患者において認められないかまたはかろうじて検出可能である。遺伝的形質のパターンおよび突然変異における差が症状発症時の年齢および疾患重症度における可変性をもたらす一方、すべてのHPP患者が、TNAPの欠乏に起因して骨マトリックスを石灰化できない（くる病または骨軟化症をもたらす）といった同じ主要な病態生理学的異常を共有する。幼児および小児におけるこの主要な異常は、単独でまたは関連の代謝障害と組み合わせて、骨の変形、成長障害、および運動能力の低下をもたらし得る。この主要な病態生理学的機構は、複数の重要臓器への進行性障害、機能ビタミンB6におけるCNS欠損に起因する発作、および発育遅延を迅速にもたらし得る。HPPを有する被験者は、未処置のままでは、例えば高カルシウム血症や高リン血症を発症し得る。

30

【0019】

あらゆる形態のHPPは、同じ内在する遺伝的および生化学的異常を共有するが、HPPの診断は実際には疾患のスペクトルを包含する。HPPの公表された分類は、歴史的に臨床症状が最初に出現する年齢を考慮しており、疾患を以下のカテゴリー：出生時（子宮内で出生時に発症）、乳児（出生後～6月齢に発症）、若年（小児とも記載、6月齢～18歳に発症）、および成人（18歳過ぎに発症）に分類している。良性の出生時HPPおよび歯限局型低ホスファターゼ症を含む他のより軽度な疾患型もまた、記載がなされている。

40

【0020】

HPPは、子宮内で出現し、死産を引き起こすことがある。出産時、手足が短縮され、深刻な骨格の無機質減少症からの変形を受けることがあり、X線検査によると、骨構造のほぼ全体の喪失を呈することが多い。出生時HPPを有する大部分の患者は重篤な疾患有し、死は一般に、肺形成不全に起因する呼吸不全や、くる病性胸部（rachitic chest）に起因する機能低下から生じる。乳児発症型HPPを有する患者は、出生

50

時に正常と思われることが多いが、典型的には出生から最初の6か月以内に骨格異常や高度虚弱を呈する。これらの患者は、胸部のくる病性変形からの動搖胸郭を有し得、またこれにより彼らは、肋骨骨折とともに、肺炎や呼吸障害に罹患する場合がある。死亡率は、通常は肺合併症に起因し、50%程度に高いことが報告されている (Whyte M. H ypophosphatasia. In: Glorieux FH, Pettifor JM, Juppner H, editors. Pediatric Bone: Biology and Diseases. London, UK, Academic Press; 2012: pp. 771-94; Caswell A. et al., Crit. Rev. Clin. Lab. Sci., 28: 175-232, 1991)。他の臨床的特徴として、例えば、結果としての頭蓋内圧の亢進およびうつ血乳頭を伴う機能的な頭蓋縫合早期癒合症、および非外傷性骨折を挙げてもよい。高カルシウム血症および高カルシウム尿症もまた好発し、腎障害を伴う腎石灰化症が発症する場合がある。脱力および運動発達遅延もまた、乳児発症型HPPで好発する合併症であり、中枢神経系におけるビタミンB6欠損に発作が続発する場合がある。

【0021】

若年発症患者では、長管骨のX線写真が、成長板から骨幹端に突出する（放射線透過性の「舌」と説明される場合がある）限局的な骨欠損を呈することが多い。骨端軟骨の拡大、一時的な石灰化区域の不規則さ、および骨硬化症の領域に隣接して放射線透過性の領域で広がった骨幹端もまた現れることがある。頭蓋縫合の未熟な骨融合もまた、一部の患者で認められており、潜在的な頭蓋内圧の亢進、眼球突出、および脳損傷に至る。例えば、肋軟骨接合部のビーディング、内反膝またはX脚のいずれか、および広がった骨幹端からの手首、膝、および足首の拡大を含むくる病性変形が好発し、低身長をもたらすことが多い。歩行が遅延することが多く、また特に下肢の近位筋の脚弱によって特徴づけられる非進行性ミオパチーについても記載がなされている (Seshia, S. et al., Arch. Dis. Child., 65: 130-1, 1990)。骨格の疼痛と凝りもまた現れることがある、非外傷性骨折が好発する。同様に腎石灰化症が若年発症型HPPにおいて発生することがある。

【0022】

HPPの最初の徴候はまた、後の人生において出現し得る（成人型HPPなどの場合）が、問診時、多数の成人患者が小児期に早期歯牙欠損またはくる病の病歴を報告している。成人型HPPでは、無機質減少症が骨軟化症として顕在化する。成人型HPP患者は、しばしば中足骨および/または大腿骨において再発性の治癒不良の骨折を被っている。転子下大腿偽骨折からの大腿と臀部における疼痛の愁訴もまた一般的である。X線写真は、骨減少症および軟骨石灰化症の存在を呈することが多い。一部の患者では、無水ピロリン酸カルシウムの沈着が生じ、PPi関節症をもたらす。成人型HPPは「軽度」として説明されているが、成人における疾患の徴候は重篤かつ衰弱性であり得、複数の手術や日常生活の活動を遂行するための補助器具の使用を必要とすることが多い。

【0023】

内因性AP、例えばTNAP中に欠損を有する被験者は、AP酵素置換療法 (ERT) を必要とする。AP-ERTは、例えばHPPの治療において奏功している。ERTは、特定の酵素が欠損しているかまたは存在しない被験者における酵素を置換する。ERTは、内在する遺伝的欠陥に影響しないが、患者に欠損している酵素の濃度を増加させる。置換されるべき酵素のコピーは、例えば、内因性酵素のコピー、酵素のアイソフォーム、酵素のオルソログ、酵素のキメラバージョン、酵素の関連活性部位との融合タンパク質または酵素のそれら以外の改変バージョンであり得る。ERTは、例えば、酵素自体を提供することによるかまたは（例えば、遺伝子治療法、mRNA法、転写または翻訳の活性化法などを通じて）被験者の特定の組織または細胞において酵素の発現を引き起こすことにより、達成することができる。

【0024】

例えば、アスホターゼアルファまたはSTRENSIQ（登録商標）は、TNAPホス

10

20

30

40

50

ファターゼドメインがFc鎖およびその分子を骨に標的化するための骨タグに融合された2つの单量体を含む二量体融合タンパク質である。本明細書に記載のAPは、例えば、インタクトな天然タンパク質、修飾タンパク質または融合タンパク質であり得る。融合タンパク質は、例えば、タンパク質を安定化させる、患者における滞留時間を延長する、および/または融合タンパク質を特定の組織、例えば骨に標的化するための配列を含み得る。例えば、融合タンパク質は、Fcドメインまたはアルブミン部分を含み得る。骨タグは、典型的には負荷電領域、例えばポリアスパラギン酸またはポリグルタミン酸配列、例えば、約5～約50の間、約10～約25の間、約67～約30の間、約5、約10、約15、約20、約25、約30、約35、約40、約45、約50もしくはより多くのアスパラギン酸、グルタミン酸、または他の負荷電アミノ酸（天然または非天然）である。

10

【0025】

本明細書に記載の通り、AP-ERTによる被験者の治療は、例えば、低カルシウム血症、副甲状腺機能亢進症、低リン酸血症、ビタミンD欠損、および/またはそれらの症状もしくは副作用を生じ得る。かかる状況は、例えば、ミネラル異常が深刻であり、ヒドロキシアパタイトの形成のためのカルシウムおよび亜リン酸の利用能が十分でない（例えば、食物における補充が不十分であるか、食物中の利用可能なミネラルの利用が不十分であるかまたは尿中喪失が深刻である）場合に生じ得る。これらの作用の1つ以上の治療は、作用の「過剰補正」につながり、それ故、過剰補正を元に戻すためのさらなる治療を必要とし得る。したがって、本明細書に記載の通り、カルシウム、PTH、リン酸およびビタミンDを監視することで、AP-ERTを必要とするかまたはAP-ERTで治療中である被験者の治療が改善され得る。

20

【0026】

本明細書に記載されるのは、例えばAP-ERTでの治療前または治療時、骨石灰化に関連する1つ以上の代謝産物（例えば、PTH、Ca²⁺、ビタミンD、および/またはリン酸）を正常化するための治療を受ける必要がある被験者を同定するための材料および方法である。例えばAP-ERT治療に先立ち低カルシウム血症である、AP-ERTを必要とする被験者であれば、AP-ERT治療前にカルシウムレベルを正常化していることから便益を得ることになる。

【0027】

日常の尿分析および血清・血液学的検査および化学検査は、例えばAP-ERTを用いる治療（例えば、アスホターゼアルファによる治療）の前、間および後に得ることができる。カルシウムおよびリン酸代謝は、血清カルシウム、リン酸およびPTHレベルならびに尿中カルシウム排泄の測定により定期的に監視される必要がある。カルシウムの食事摂取は、PTHレベルおよび尿中カルシウムレベルに従って調節される（他のマーカー、例えばクレアチニンまたはアルブミンについてイオン化され、調節される）必要がある。無機質減少症を有する、例えばHPPくる病または骨軟化症を有する患者においてアスホターゼアルファを用いるとき、カルシウムの骨マトリックスへの迅速な摂取が低カルシウム血症のエピソードを生じ得ることから、カルシウム濃度を詳細に監視することは有用である。特定例では、これは治療の最初の1か月もしくは数か月の間が特に適切である。潜在的な低カルシウム血症誘導性の発作を含む、低カルシウム血症の続発症を予防するため、例えば、カルシウムの補充、またはカルシウム模倣薬を用いる治療は、カルシウムレベルが統計学的に有意に低いまたは高い患者に対して有用であり得る。

30

【0028】

本明細書で用いられるとき、「改变された」分子は、天然供給源から単離され、合成され、かつ/または化学修飾され得る分子である。改变された分子が生体分子である場合、改变された分子は、変異誘発される、第2の分子に融合されて例えば融合タンパク質を形成する、特定の機能的部分、例えば標的化ドメイン、精製ドメイン、活性部位などに付着される、ヒト化される、または特定のドメインを他のタンパク質もしくはアイソフォームと交換することによってキメラタンパク質にされるような分子であり得る。改变することは、望ましい結果を得るため、その分子を特定の様式で修飾する方法である。

40

50

【0029】

本明細書で用いられるとき、「融合タンパク質」は、2つ以上の異なるタンパク質に由来する部分の残基を含む改変されたタンパク質を指す。融合タンパク質を作製するために用いることができる融合遺伝子は、別々のタンパク質をコードする2つ以上のコード配列の連結を通じて作出される。融合遺伝子の翻訳の結果、元のタンパク質の各々に由来する機能的特性を有する単一または複数のポリペプチドが得られる。組換え融合タンパク質は、組換えDNA技術によって作出される。

【0030】

本明細書で用いられるとき、「キメラタンパク質」は、少なくとも2つの異なるタンパク質に由来する部分を含むタンパク質である。同用語は、異なる機能または物理化学的パターンを有するポリペプチドからなるハイブリッドタンパク質を指す。

10

【0031】

本明細書に記載の被験者は、AP活性の欠損を有する。かかる欠損は、例えばAP酵素が産生されないかまたは活性型で産生される要因となる遺伝的異常（例えば突然変異）に起因して生じ得る。かかる欠損はAPアイソフォームのいずれかにおいて生じ得るが、本開示において特に興味深いことは、骨石灰化障害、例えばHPPをまねくAP欠損である。

【0032】

本明細書に記載されるのは、骨石灰化疾患、障害、状態またはその症状、例えばHPPに対する治療、例えばERT-AP治療を必要とするかまたは治療中である患者が、さらなる治療の必要性または現在の治療計画を変更する、例えば用量および／もしくは投与頻度を変更するという必要性を示すような1つ以上の分析物について監視され得ることを示す知見である。

20

【0033】

「治療」は、被験者が患う疾患、障害、状態、または症状の発症予防（予防）、治癒、または症状の軽減のいずれかを意図した、患者または被験者に対する治療薬の投与または医療処置の実行を指す。

【0034】

本明細書に記載の治療（治療法）はまた、「併用療法」の一部であり得る。併用療法は、2つ以上の薬剤をその各々が別々に調合され、投与されるように投与するか、または2つ以上の薬剤を単一の調合で投与することにより、達成され得る。例えば、1つの活性成分は、例えば、TNA P欠損に関連した疾患、障害、状態または症状、例えば低ホスファターゼ血症、または活性剤による治療に関連した症状（「副作用」）を治療するのに有用であり得る。他の組み合わせもまた、併用療法により包含される。例えば、2つ以上の薬剤は、一緒に調合され、別々の配合物を含有する第3の薬剤と併用投与され得る。併用療法における2つ以上の薬剤は、同時投与され得るが、その必要はない。例えば、第1の薬剤（または薬剤の組み合わせ）の投与は、第2の薬剤（または薬剤の組み合わせ）の投与に対して数分、数時間、数日または数週間先行し得る。したがって、2つ以上の薬剤は、互いに数分以内にまたは互いに任意の時間以内にまたは互いに任意の時間もしくは数日もしくは数週以内に投与され得る。

30

【0035】

本明細書で用いられるとき、「治療有効用量」または「治療有効量」は、（例えば、異常なAP活性に関連する、例えばHPP）疾患、障害、状態またはその症状の重症度における低下、疾患や症状のない期間の頻度および持続時間における増加、または疾患の苦痛に起因する機能障害または能力障害の予防をもたらす。

40

【0036】

本明細書に記載の通り、AP置換療法による治療は、治療を受ける被験者が1つ以上のさらなる分析物についてさらに監視されるとき、より有効であるかまたは健康もしくは生活の質の全体的改善をもたらす。PTH、カルシウム（Ca²⁺）、リン酸およびビタミンDの濃度は、AP-ERTの間、各々監視するかまたは個別に監視することができ、具

50

体的な濃度は、例えば治療の有効性および／または1つ以上のさらなる治療計画に対する必要性を示す。

【0037】

PTHは、環状AMPのアデニル酸シクラーゼ産生を刺激するGタンパク質結合受容体を介して骨内の骨芽細胞および腎臓内の尿細管細胞に対して作用する。骨内で、1時間もしくは2時間以内に、PTHは、微小な液で満たされたチャネル（細管／小腔）内のカルシウムが骨細胞のシンシチウム過程により取り込まれ、骨の外表面ひいては細胞外液に移されるような骨溶解症として知られる過程を刺激する。数時間後、それはまた、石灰化骨の再吸収；Ca²⁺とリン酸の双方を細胞外液に放出する過程を刺激する。

【0038】

AP-ERTがPTH濃度に影響を及ぼし得ることから、例えば、被験者から得られる試料中のPTH濃度を監視することは被験者のより優れた治療として興味深い。例えば、治療される被験者の血清PTH濃度が正常よりも統計学的に有意に低いまたは高いについての判定は、治療計画の改訂（例えば副甲状腺機能亢進症を例えればシナカルセトで治療する場合、例えばAP-ERT計画を1つ以上の治療薬と組み合わせること）につながり得る。PTH濃度が統計学的に有意に高いと判定される症例、例えば副甲状腺機能亢進症では、被験者は、患者が初期用量に対する骨石灰化の観点で良好な応答を示さない症例では、PTHレベルを低下させるため、より高いレベルのAP-ERT、例えばアスホターゼアルファで治療することができる。

【0039】

本明細書で用いられるとき、用語「試料」は被験者由来の生物学的材料を指す。血清濃度が興味対象であるが、試料は、例えば、単細胞、多細胞、組織、腫瘍、体液、脳細胞外液、生体分子または前述のいずれかの上清もしくは抽出物を含む多数の生物学的供給源に由来し得る。例として、生検用に除去された組織、切除中に除去された組織、血液、尿、リンパ組織、リンパ液、髄液、羊水、粘膜および便試料が挙げられる。用いられる試料は、アッセイフォーマット、検出方法およびアッセイされるべき腫瘍、組織、体液、細胞または抽出物の性質に基づいて変化することになる。試料を調製するための方法は、当該技術分野で公知であり、用いられる方法に適合可能な試料入手することに容易に適応し得る。

【0040】

本明細書で用いられるとき、「統計学的有意性」は、差または関係性が存在する、例えば標本値が正常値もしくはベースライン値から統計学的に有意に異なることの確実性に関する情報を提供する統計学的用語である。統計学的有意性は、帰無仮説が真であると仮定すると、少なくとも極端な結果として得る確率が低いことを見出すことによって与えられる。統計学的有意性は、帰無仮説が拒絶され得るか否かが判定される場合、統計学的仮説を検証する上で不可欠な部分である。ある集団から試料を採取することを含む任意の実験または観察では、観察される効果が標本誤差単独に起因して生じていたという可能性が存在する。しかし、帰無仮説が真であると仮定すると、少なくとも極端な結果（2つ以上の標本平均間の大幅な差）として得る確率が予め決められた閾値（例えば5%の確率）未満である場合、治験責任医師は、観察された効果が単なる標本誤差ではなく集団の特性を実際に反映すると結論づけることができる。統計学的有意性に対する検定は、統計値のため、検定値を一部の臨界値と比較することを含む。有意性について検定するための手順は、臨界アルファレベル（すなわち許容できる誤り率）について決定し、統計値を計算し、統計値を表から得られる臨界値と比較するという点は同じである。帰無仮説が実際に真である場合に観察される標本の結果（またはより極端な結果）を得る確率であるP値は、有意性またはアルファ（ α ）レベルと関連する対になることが多く、それも通常は約0.05（5%）に予め設定される。したがって、P値が約0.05未満であることが判明した場合、その結果は統計学的に有意であると考えられたことになり、帰無仮説は拒絶されたことになる。他の有意水準、例えば約0.1、約0.075、約0.025もしくは約0.01もまた用いることができる。本明細書で用いられるとき、分析物の「統計学的に有意

10

20

30

40

50

に低い」濃度は、対照、例えば健常な被験者における正常な状況またはベースライン状況より低い濃度である。逆に、分析物の「統計学的に有意に高い」濃度は、対照被験者における分析物の正常濃度またはベースライン濃度より高い濃度である。

【0041】

PTHは破骨細胞機能を促進し、骨再吸収をもたらし、それにより血清Ca²⁺およびリン酸濃度を増加させる。低レベルの血清Ca²⁺は甲状腺からのPTHの放出または産生に対して負のフィードバック効果を示さないが、高濃度の血清Ca²⁺は、PTHの放出および/または産生に対して負のフィードバック効果を示すことによって、血中のPTHレベルの低下をもたらす。関連の経路においては、ビタミンDは、腸におけるCa²⁺とリン酸の吸着を高め、血清Ca²⁺レベルの上昇をもたらし、それ故、骨再吸収を低下させる。しかし、骨に対する活性型ビタミンD(1,25(OH)₂D)の効果は多様であり、形成または再吸収に影響し得る。

【0042】

しかし、副甲状腺機能低下症(hypoPT)は、欠損しているホルモンで治療されないことが多い幾つかの主要なホルモン欠損症の1つである(ホルモン置換療法は利用可能である)。ウシPTHは、実験治療として精製され、用いられているが、治療としての有用性は、抗体形成やコストが主な理由で低下した。骨粗鬆症の治療用の完全ヒト化切断PTH(テリパラチド、PTH(1~34))とインタクトな副甲状腺ホルモン(Preotact、PTH(1~84))により、PTH薬がよりアクセス可能なものになり、それにより、hypoPTのPTH治療を伴う臨床試験が実現可能になった。hypoPTは依然として例えばカルシウムおよび/またはビタミンDを補充することによって治療されるが、hypoPTを有する患者は、PTHで治療されるとき、1-水酸化ビタミンD代謝物とカルシウム添加物を用いる従来の治療と比べて生活の質の改善を経験する。

【0043】

原発性副甲状腺機能亢進症は、副甲状腺の機能亢進に起因する。PTHの過剰な分泌は、例えば、副甲状腺腫、副甲状腺過形成または副甲状腺がんに起因し得る。この疾患は、腎結石、高カルシウム血症、便秘、消化性潰瘍および抑うつの存在によって特徴づけられることが多い。

【0044】

二次性副甲状腺機能亢進症は、低カルシウム血症(低い血中カルシウムレベル)に応答した副甲状腺によるPTHの生理学的分泌に起因する。最も一般的な原因は、ビタミンD欠損および慢性腎不全である。ビタミンDの欠乏は、腸によるカルシウム吸収の低下をもたらし、低カルシウム血症とPTH分泌の増加をまねく。これは骨再吸収を増加させる。慢性腎不全における課題は、より詳細には、腎臓においてビタミンDをその活性型に変換できることである。腎不全によって引き起こされる二次性副甲状腺機能亢進症における骨疾患は、腎性骨異常症と称される。

【0045】

三次性副甲状腺機能亢進症は、最終的に副甲状腺の過形成および血清カルシウムレベルに対する応答の低下をもたらす、長期にわたる二次性副甲状腺機能亢進症を有する患者において見られる。

【0046】

四次性および五次性(quintary)副甲状腺機能亢進症は、原発性副甲状腺機能亢進症が腎損傷をもたらしており、ここで再び、自律性(五次性)副甲状腺機能亢進症を自発的に生じさせ得る三次性(四次性)副甲状腺機能亢進症の形成を引き起こす場合での原発性副甲状腺機能亢進症の外科的除去後、認められ得るまれな症状である。加えて、四次性副甲状腺機能亢進症は、副甲状腺摘出術後の飢餓骨症候群から続発する場合がある。

【0047】

原発性副甲状腺機能亢進症は、例えばカルシウム模倣薬による治療が奏功しない場合、例えば手術(副甲状腺摘出術)により治療され得る。三次性副甲状腺機能亢進症は、例えば、ビタミンDの補充により、かつ/またはカルシウム模倣薬(例えばシナカルセト)の

10

20

30

40

50

使用により治療され得る。副甲状腺機能亢進症の他の形態は、二次性副甲状腺機能亢進症のバリエーションであり、治療は原発性および二次性副甲状腺機能亢進症に対して用いられる手法と同様の手法を含む。

【0048】

低い血漿カルシウムは、PTH放出を(PTH放出の阻害を無効にすることにより)刺激し、PTHは、 Ca^{2+} を骨内貯蔵所から再吸収し、 Ca^{2+} の腎再吸収を増強するよう作用する。高い血漿カルシウムは、カルシトニン分泌を刺激し、骨再吸収を阻害することにより血漿カルシウムを低下させる。

【0049】

正常な血液カルシウムレベルは、約8.5～約10.5 mg/dLの間であり(2.1 10 2～2.62 mmol/L；一部の報告では約8.0～約10.0 mg/dLの間の値が用いられる)、イオン化カルシウムのレベルは、4.65～5.25 mg/dL(1.16～1.31 mmol/L)である。低カルシウム血症または高カルシウム血症は、統計学的に有意に低いまたは高い血清カルシウム濃度によって特徴づけられる。例えば、低カルシウム血症被験者は、典型的には約2.5 mg/dL以下の血清カルシウム濃度を呈する(Sorell, M. & Rosen, J., J. Pediatr., 87: 67-70, 1975)。例えば、低カルシウム血症被験者は、約7.0 mg/dL以下、約5.0 mg/dL以下、約1.0 mg/dL以下、または約0.5 mg/dL以下の血清カルシウム濃度を有し得る。

【0050】

低カルシウム血症の一般的な原因として、副甲状腺機能低下症、ビタミンD欠損および慢性腎疾患が挙げられる。低カルシウム血症の症状として、例えば、(クボステック徵候またはトルソー徵候によって表されるようなテタニー、気管支痙攣を含む)神経筋の易刺激性、心電図変化および発作が挙げられる。治療オプションとして、例えば、カルシウムおよびビタミンDの幾つかの型またはその類似体の単独または組み合わせての補充が挙げられる。10%のグルコン酸カルシウムが静脈内投与され得るか、または低カルシウム血症が重篤である場合、塩化カルシウムが投与され得る。他の治療として、経口、咀嚼、または液体形態での複合ビタミン剤補充が含まれる。

【0051】

高カルシウム血症は、血液中の Ca^{2+} レベルの上昇であり、それは他の疾患を示すことが多い。それは、過剰な骨格カルシウムの放出、腸管カルシウム吸収の増加または腎カルシウム排泄の低下に起因し得る。高カルシウム血症の神経筋症状は、カルシウムとナトリウムチャネルとの相互作用の増加に起因する陰性変闘効果によって引き起こされる。カルシウムがナトリウムチャネルを遮断し、神経および筋線維の脱分極を阻害することから、カルシウムの増加は脱分極における閾値を上昇させる。高カルシウム血症の症状として、例えば、腎結石または胆石、骨石灰化障害および骨痛、腹痛、恶心、嘔吐、多尿症、抑うつ、不安、認知機能障害、不眠、昏睡、疲労、食欲不振および膵炎が挙げられる。高カルシウム血症は、約10.5 mg/dLを超える(>2.5 mmol/L)血清カルシウムレベルと定義される。高カルシウム血症はまた、全血清およびイオン化カルシウムレベルに基づいて、軽度：全カルシウム10.5～11.9 mg/dL(2.5～3 mmol/L)またはイオン化カルシウム5.6～8 mg/dL(1.4～2 mmol/L)；中等度：全カルシウム12～13.9 mg/dL(3～3.5 mmol/L)またはイオン化カルシウム5.6～8 mg/dL(2～2.5 mmol/L)；高カルシウム血症の急性発症：全カルシウム>14～16 mg/dL(3.5～4 mmol/L)またはイオン化カルシウム10～12 mg/dL(2.5～3 mmol/L)、のように分類され得る。

【0052】

高カルシウム血症は、例えば初期治療としての体液と利尿薬の使用(水和、塩分摂取の増加、および強制利尿)を含む幾つかの方法で治療される。利尿剤治療薬として例えばフロセミドが挙げられ、同治療薬は継続的な大量の静脈内の塩分と水の置換を可能にする—

10

20

30

40

50

方で血液量の過剰負荷および肺浮腫のリスクを最小化するように投与され得る。さらに、ループ利尿薬は、腎カルシウム再吸収を抑制する傾向があり、それにより血液カルシウムレベルの低下を助ける。カリウムまたはマグネシウムの枯渇を阻止するように注意しなければならない。さらなる治療法として、例えば、ビスホスホネート、ブリカマイシン、硝酸ガリウム、グルココルチコイドおよびカルシトニンが挙げられる。ビスホスホネートは、骨、特に高い骨代謝回転の領域に対して高い親和性を有するピロリン酸類似体である。ビスホスホネートは、破骨細胞によって取り込まれ、破骨細胞の骨再吸収を阻害する。利用可能な薬剤として、例えば、エチドロン酸、チルドロン酸、パミドロン酸Ⅳ、アレンドロン酸、ゾレドロン酸、およびリセドロン酸が挙げられる。カルシトニンは、骨再吸収を遮断し、さらに腎カルシウム再吸収を阻害することによって尿中カルシウム排泄を増加させる。リン酸療法は、高カルシウム血症にもかかわらず低リン酸血症を治し、血清カルシウムを低下させ得る。血清カルシウム濃度を低下させるため、カルシウム模倣物、例えばシナカルセトもまた用いられる。

【0053】

ビタミン欠乏症Dは、ビタミンDの欠乏である。それは、不十分な日光照射（特に十分な短波長紫外線を伴う日光）によるビタミンDの不十分な栄養摂取、ビタミンD吸収を制限する障害、ならびに特定の肝障害、腎障害、および遺伝性障害を含む、ビタミンDの活性代謝物への転換を損なう状態に起因し得る。欠乏は、骨石灰化の障害をもたらし、小児におけるくる病ならびに成人における骨軟化症および骨粗鬆症を含む骨軟化疾患をもたらす。カルシウムとビタミンDの双方の維持用量は、さらなる減少を阻止するのに必要であることが多い。

【0054】

例証

以下の実施例は、特許請求の範囲に開示され、説明される通りの本発明の範囲を限定しない。

【実施例】

【0055】

実施例1.PTHおよびカルシウム

疾患発症時の年齢による結果を評価すると、乳児発症型および若年発症型HPPを有する患者において、PTHレベルの平均および中央値は、特に治療から最初の12週間がより遅い時点と比べてより高く、骨石灰化過程およびその監視に関連する可能性が高かった。場合によっては、監視過程と同時にPTH、カルシウム、およびリン酸レベルを正規化するため、複合ビタミン剤、カルシウム、ビタミンD、ビタミンA、ビタミンK、シナカルセト、リン酸ピリドキサールカルシウム、および/またはカルシトニンを患者に投与した。

【0056】

成人発症型HPPを有する患者における平均PTHレベルは、約72週を通じて乳児発症型および若年発症型HPP患者において認められるレベルより低い傾向があった。しかし、これらの比較は、成人発症型HPPを有する患者2名のみを含んだ。図1は、臨床試験における血清PTHの経時的变化を提供する。

【0057】

患者はベースラインPTHレベルによって細分化し、アスホターゼアルファ治療開始後の初期期間における変化の詳細は以下の通りである。

【0058】

ベースラインで低いPTHを有する患者9名について：

ベースラインで正常なカルシウムレベルおよび治療後により低いカルシウムレベルを有する患者7名はPTHの上昇を有した。患者1名を除く全員が、RSSスコア（くる病のスコアリング）による判定によると、放射線学的改善を示した。

【0059】

高いベースラインの血清カルシウムを有する患者1名は、6週目までに血清カルシウム

10

20

30

40

50

レベルにおける変化を示さず、P TH の変化を示さず、その時点でその患者を試験から中止させた。この患者がアスホターゼアルファを 2 用量のみの投与を受けて、その後中止させたため、カルシウムまたは P TH の無変化が予想されたことに注意されたい。

【 0 0 6 0 】

高いベースラインの血清カルシウムレベルを有する患者 1 名は、24 週目までに血清カルシウムの正常化を有した。この患者における 6 週目を超える P TH データは利用不可である（6 週目、P TH は変化しなかった）。この患者は、12 週目（アスホターゼアルファ用量を増加させてから 7 週間後）、くる病における改善を示さなかったが、24 週目までに RSS スコアの低下を示した。

【 0 0 6 1 】

ベースラインで正常な P TH を有する患者 13 名について：

10

ベースラインで正常な P TH および正常なカルシウムレベルを有する患者 12 名が、血清カルシウムレベルにおいて小さい変化を伴うかまたは全く変化を伴わずに、また P TH レベルにおいて全く変化を伴わないかまたはわずかな変化を伴って応答した。患者 1 名を除く全員が X 線検査で改善を示した。

【 0 0 6 2 】

ベースラインで正常上限のカルシウムレベルを有する患者 1 名が、カルシウムレベルの正常化および P TH における大幅な増加を伴って応答した。この患者は X 線検査での改善を示した。

【 0 0 6 3 】

患者 1 名のみが、正常なカルシウムレベルを伴うベースラインで高い P TH を有した。患者は、血清カルシウムレベルの低下および P TH レベルの大幅な上昇を伴って応答した。この患者は、P TH の上昇期間中、放射線学的改善を示さなかった。

20

【 0 0 6 4 】

患者 1 名が、利用可能なベースラインの P TH 結果を有しなかったが、6 週目での最も早期の結果は正常範囲内の値を示した。カルシウムは、60 週目まで、ある程度の周期的変動を伴って正常範囲内で維持された。患者は、くる病の悪化（12 週目の R GI - C スコアが負（-1.67）であった）と、初期用量として 6 mg / kg / 週のアスホターゼアルファに対する成長スコアを示した。成長遅延の継続的悪化が原因で用量が 9 mg / kg / 週に増加してから、患者は X 線撮影徵候における改善を示し（36 週目、RSS スコアが 24 週目の評価以来、4.5 ポイント改善した）、P TH は正常範囲を超えて増加した。P TH は、72 週目にピークに達するまで、より急勾配にさらに増加した。カルシウムレベルが 48 週目に低下を示し（依然として正常範囲内であったが）、次に 60 週目に正常未満に低下したが、72 週目に正常まで反跳したことに注意されたい。この患者では、低いビタミン D レベルと低い尿カルシウム / クレアチニン比が、観察された P TH レベルの上昇と同時発生的であることが見出された。

30

【 0 0 6 5 】

実施例 2 . リン酸

すべての HPP 発症カテゴリーにおいて、平均血清リン酸値は 24 週目に至るまで変動する傾向が見られ、次いで継続的治療とともに正常化し、安定化するように思われた。血清リン酸レベルにおける幾らかの低下が、治療の早期に生じる強力な骨石灰化過程に起因した可能性が高い、最初の数週間の治療中の血清カルシウムレベルにおける低下と同時発生的であるように思われた。

40

【 0 0 6 6 】

患者 3 名（乳児発症型）が、治療中、ベースラインでのリン酸において正常値から低値への変化を有し、ベースラインでの低値または正常値を有する患者 21 名（乳児発症型 15 名；若年発症型 5 名；成人発症型 1 名）が治療中に高値への変化を有し、最終来診時、正常値または高値から低値へ変化していた患者は皆無で、患者 5 名（乳児発症型）が正常値から高値へ変化していた（図 2 を参照）。

【 0 0 6 7 】

50

実施例 3 . ビタミン D

25-OHビタミンD値の平均は、成人発症型HPPを有する患者では、他のHPP発症カテゴリーにおける患者よりも一貫して高かったが、これらの値は確かに経時にわずかに低下し、試験に含まれる成人発症型HPPを有する患者は2名にすぎなかった。他のHPP発症カテゴリーにおける25-OHビタミンD値の平均および中央値は、経時に比較的一貫していた（図3を参照）。ビタミンD値が臨床医により監視され、欠損または所望されるより低い（すなわち20ng/ml未満）と同定された患者では、ビタミンDを、経口薬の形態のビタミンD、すなわち小児用ビタミン、成人用複合ビタミン剤、またはビタミンDカプセル剤で補充した。場合によっては、ビタミンDは、筋肉内注射として、またはカルシウム、ビタミンA、および／もしくはビタミンKとの組み合わせ用量で投与した。カルシトリオール、コレカルシフェロール、および／またはエルゴカルシフェロールもまた、必要に応じて投与した。
10

【0068】

実施例 4 .

血清カルシウム、副甲状腺ホルモン（PTH）、リン酸およびビタミンDでの治療前および治療後の系統的分析を実施した。

【0069】

カルシウム：血清カルシウムレベルは、ベースラインで1.92～4.03mmol/Lの範囲で変動した。アスホターゼアルファによる治療期間にわたるカルシウムレベルの平均および中央値における変化は顕著でなかったが、レベルは安定化し、変動性が低下する傾向があり、カルシウムレベルは、24週目に1.82～2.80mmol/L、最終来診時に2.12～3.67mmol/Lの範囲であり、基本的に低カルシウム血症のエピソードがなくなり、高カルシウム血症の範囲がほぼ正常まで低下した（すなわち範囲上限が3.5mmol/Lである）。正常範囲を超えるカルシウムの増加は一般に小さく、存在する場合、ベースラインで最も顕著であり、X線での記録として骨におけるカルシウム沈着の増加とともに、アスホターゼアルファ治療期間にわたり正常化する傾向があった。疾患発症時の年齢により結果を評価すると、乳児発症型HPPを有する患者において、カルシウムのわずかな増加が一般に見られ、これらの患者におけるカルシウムレベルは治療中に正常化する傾向があった（表1および図4）。
20

【0070】

副甲状腺ホルモン：PTHレベルの平均および中央値は、最も顕著にはアスホターゼアルファによる治療の最初の12週間の間に、治療とともに増加した。この増加は、アスホターゼアルファ治療に関連する骨石灰化過程における増加に続発する生理学的応答に起因した可能性が高い。ベースラインおよび治療全体で記録したPTHレベルの可変性は、限定はされないが、年齢、肥満度指数（BMI）、血清クレアチニンレベル、血清カルシウムレベルおよびビタミンDレベルを含む、PTHレベルに影響する要素に起因する場合がある。疾患発症時の年齢により結果を評価すると、PTHレベルの平均および中央値は、乳児発症型および若年発症型HPPを有する患者において、特に治療から最初の12週間がより遅い時点と比べてより高く、骨石灰化過程に関連する可能性が高かった。成人発症型HPPを有する患者におけるPTHレベルの平均は、約72週目に至るまで乳児発症型および若年発症型HPP患者において認められる場合より低い傾向があったが、PTHレベルに影響し得る変数が幾つか存在する（表1および図1）。
40

【0071】

リン酸：乳児発症型、若年発症型および成人発症型HPPを有する患者において、血清リン酸値の平均は24週目に至るまで変動し、次いでアスホターゼアルファによる継続的治療とともに正常化し、安定化するように思われた。血清リン酸レベルにおける幾らかの低下が、治療早期に生じる強力な骨石灰化過程に起因する可能性が高い、最初の数週間の治療中の血清カルシウムレベルの低下と同時発生的であるように思われた（表1および図2）。

【0072】

10

20

30

40

50

ビタミンD：ビタミンDにおける経時的变化は臨床的に有意義でなく、ビタミンDの結果に見られる変動の一部は、一部の患者によって服用される併用のビタミンD添加物の影響であり得る。疾患発症時の年齢により結果を評価すると、乳児発症型または若年発症型HPPを有する患者におけるビタミンD値の平均は、成人発症型HPPを有する患者よりも一貫して高かったが、高い方の値は確かに経時的にわずかに低下した。乳児発症型および若年発症型HPPを有する患者におけるビタミンD値の平均および中央値は、経時的に比較的一貫していた（表1および図3）。

【0073】

【表1】

表1.24 週目および最終来診時までの血清 Ca^{2+} 、PTH、リン酸およびビタミンDにおけるベースラインからの変化；統合された安全性解析対象集団全体

パラメーター	統計値	ベースライン	24週目	ベースラインから24週目までの変化	最終来診	ベースラインから最終来診までの変化
カルシウム (mmol/L)						
n	71	64	64	70	70	
平均	2.540	2.487	-0.055	2.504	-0.039	
(SD)	(0.2727)	(0.1580)	(0.2459)	(0.2109)	(0.2693)	
中央値	2.500	2.485	-0.025	2.470	-0.045	
範囲	1.92, 4.03	1.82, 2.80	-1.33, 0.38	2.12, 3.67	-1.33, 0.67	
副甲状腺ホルモン (pmol/L)						
n	57	61	51	69	56	
平均	2.68	3.41	0.86	3.66	0.73	
(SD)	(1.813)	(3.848)	(4.230)	(4.988)	(2.406)	
中央値	2.40	2.50	0.50	2.40	0.45	
範囲	0.6, 8.0	0.6, 27.9	-6.2, 26.7	0.6, 38.7	-4.4, 7.8	
リン酸 (mmol/L)						
n	70	63	62	70	69	
平均	1.814	1.900	0.090	1.771	-0.042	
(SD)	(0.3922)	(0.3520)	(0.3962)	(0.2967)	(0.3960)	
中央値	1.870	1.970	0.025	1.760	-0.090	
範囲	0.42, 2.74	0.90, 2.50	-0.51, 1.49	1.00, 2.50	-0.71, 1.23	
25-ヒドロキシビタミンD (pmol/mL)						
n	68	65	63	67	64	
平均	76.5	86.2	9.8	78.3	3.5	
(SD)	(28.99)	(33.58)	(35.56)	(25.08)	(35.32)	
中央値	77.0	80.7	4.0	75.0	-1.0	
範囲	17, 169	23, 212	-54, 135	18, 179	-83, 91	

SD = 標準偏差

【0074】

実施例5

患者1名がベースラインで低い血清カルシウムレベルを有したが、アスホターゼアルファ治療の開始時、それはさらに低下し、アスホターゼアルファの用量変化における変化に応答性であった。用量は、24週目に6mg/kg/週から3mg/kg/週に低下し、48週目に6mg/kg/週に増加した。この期間中、PTHレベルは最初に上昇したが、レベルが一時的に正常範囲を超えて上昇した72週目に至るまで正常範囲内に留まった。同時に、カルシウムは上昇し、正常範囲に入った。患者は、12週目からX線検査での改善の徴候を示したが、RGICスコアが2以上に達しなかった（くる病のX線撮影徵

10

20

30

40

50

候における実質的改善を意味する）。168週目、血清カルシウムは正常範囲未満に低下し、PTHは正常範囲を超えて増加し、その時点での6分歩行試験（6MWT）結果は、120週目での以前の結果と比べて大幅な低下を示した。図5および図10を参照のこと。

【0075】

実施例6.

その後、追加年度のデータを実施例1～5に含めた患者において採取し、前述した傾向の持続を示したが、図6～9を参照のこと。

【0076】

他の実施形態

本開示が本明細書中の詳細な説明と連携して説明されている一方、前述の説明が添付の特許請求の範囲によって定義されるような範囲を例示し、限定しないように意図されるることは理解されるべきである。他の態様、利点、および変更は、以下の特許請求の範囲の範囲内に含まれる。本明細書中に引用される参考文献は、それら全体が参照により本明細書に援用される。本発明は以下の態様も提供する。

[1] アルカリホスファターゼ欠損を有する被験者を治療する方法であって、

アルカリホスファターゼを治療有効量で投与するステップと；

1つ以上の骨石灰化分析物の濃度を監視するステップと、

を含み、ここで、1つ以上の骨石灰化分析物の濃度を監視する前記ステップが前記被験者に対する少なくとも1つのさらなる治療計画を意味している、方法。

[2] 前記1つ以上の骨石灰化分析物が、ビタミンD、Ca²⁺、および副甲状腺ホルモンからなる群から選択される、[1]に記載の方法。

[3] 前記アルカリホスファターゼ欠損が低ホスファターゼ症である、[1]または[2]に記載の方法。

[4] 前記アルカリホスファターゼが、組織非特異的アルカリホスファターゼ、胎盤アルカリホスファターゼ、腸管アルカリホスファターゼ、改変アルカリホスファターゼ、アルカリホスファターゼ部分を含む融合タンパク質、またはキメラアルカリホスファターゼである、[1]～[3]のいずれか一項に記載の方法。

[5] 前記アルカリホスファターゼがアスホターゼアルファ（図1、配列番号1）である、[1]～[4]のいずれか一項に記載の方法。

[6] 前記骨石灰化分析物がCa²⁺である、[1]～[5]のいずれか一項に記載の方法。

[7] 前記被験者が低カルシウム血症であることが判定され、前記被験者を、治療有効量のグルコン酸カルシウム、塩化カルシウム、アルギン酸カルシウム、ビタミンD、ビタミンD類似体、または副甲状腺ホルモン、またはその断片もしくは類似体で治療するステップをさらに含む、[1]～[6]のいずれか一項に記載の方法。

[8] 前記被験者が高カルシウム血症であることが判定され、前記被験者を、治療有効量のカルシウム模倣薬、ビスホスホネート、ブレドニゾン、静脈内輸液、または利尿剤で治療するステップをさらに含む、[1]～[7]のいずれか一項に記載の方法。

[9] 前記カルシウム模倣薬がシナカルセトである、[8]に記載の方法。

[10] 前記骨石灰化分析物が副甲状腺ホルモンである、[1]～[9]のいずれか一項に記載の方法。

[11] 前記被験者が統計学的に有意に低い血清濃度の副甲状腺ホルモンを有し、カルシウムまたはビタミンDを治療有効量で投与するステップをさらに含む、[1]～[10]のいずれか一項に記載の方法。

[12] 前記被験者が統計学的に有意に高い血清濃度の副甲状腺ホルモンを有し、前記被験者を、手術で、またはカルシウム模倣薬、副甲状腺ホルモンもしくはその類似体、もしくはビスホスホネートを治療有効量で投与することによって、治療するステップをさらに含む、[1]～[11]のいずれか一項に記載の方法。

[13] 前記カルシウム模倣薬がシナカルセトである、[1]～[12]のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50

[14] 前記骨石灰化分析物がビタミンDである、[1]～[13]のいずれか一項に記載の方法。

[15] 前記被験者が統計学的に有意に低い血清濃度のビタミンDを有し、ビタミンDまたはその類似体を治療有効量で投与するステップをさらに含む、[1]～[14]のいずれか一項に記載の方法。

[16] ビタミンD、ビタミンK、ビタミンB、カルシウム、および複合ビタミン剤の少なくとも1つを治療有効量で投与するステップをさらに含む、[3]に記載の方法。

[17] ビタミンD、カルシウム、およびPTHの少なくとも1つの量を減少させる少なくとも1つの治療薬を有効量で投与するステップをさらに含む、[3]に記載の方法。

[18] 前記治療有効量が、経口的に、筋肉内にまたは静脈内に投与される、[16]または[17]に記載の方法。

10

【図1】

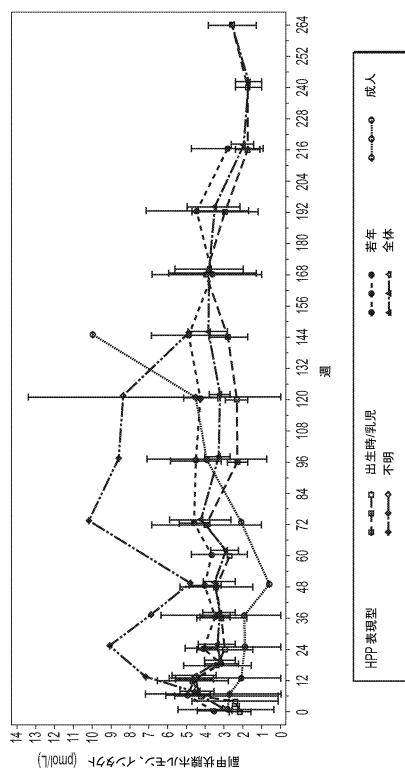


図1

【図2】

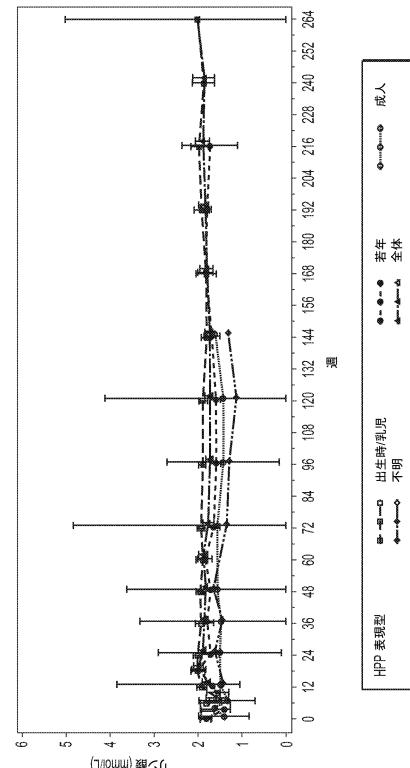


図2

【図3】

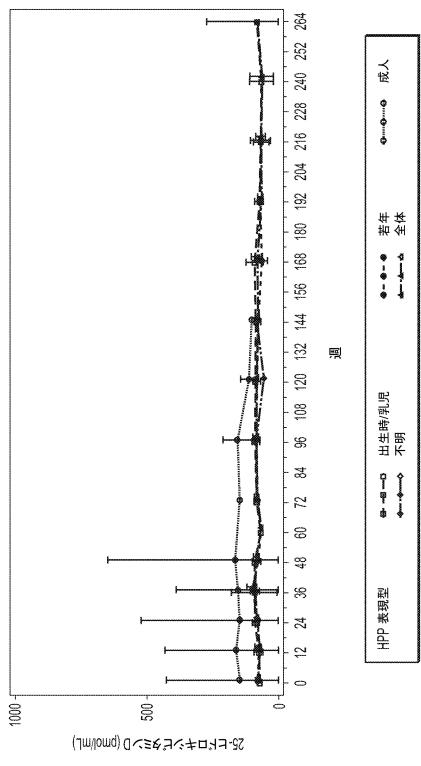


図3

【図4】

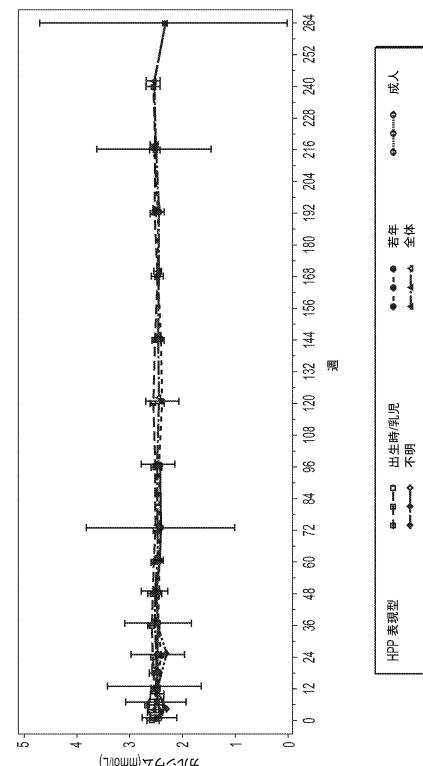


図4

【図5】

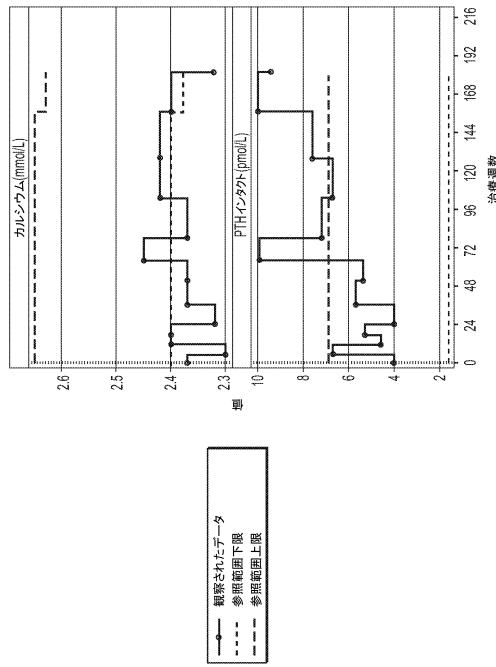


図5

【図6】

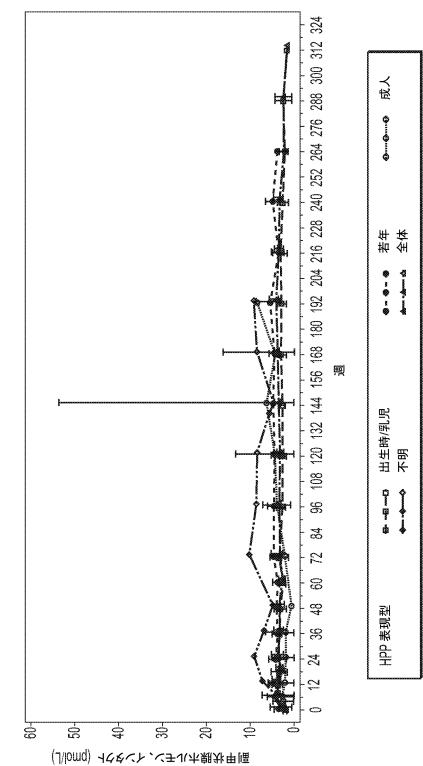


図6

【図7】

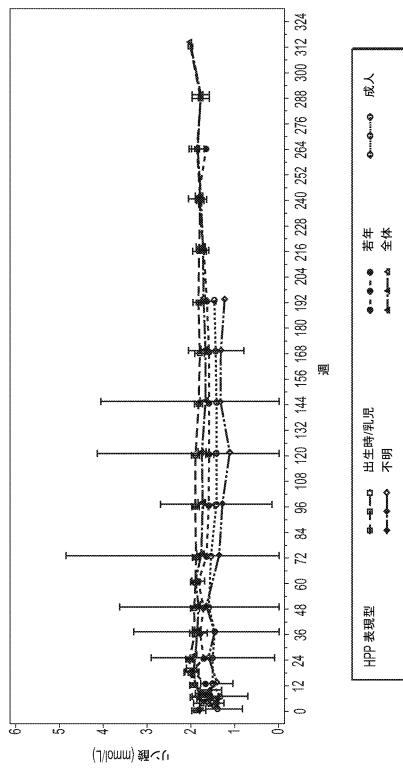


図7

【図8】

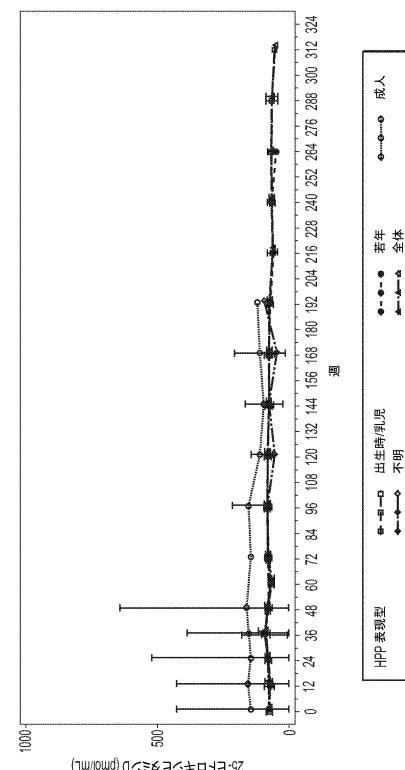


図8

【図9】

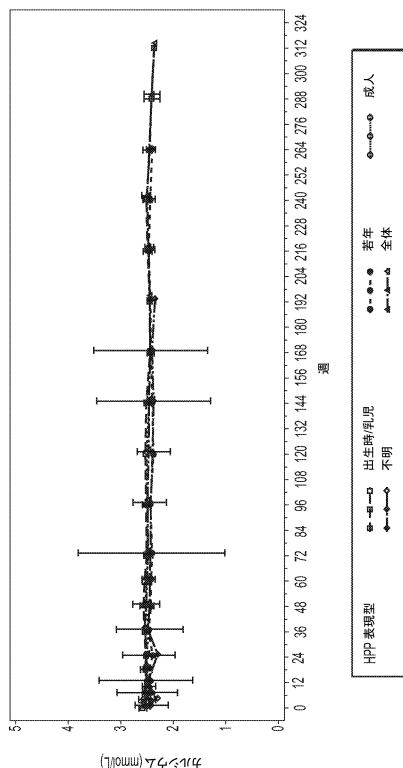


図9

【図10】

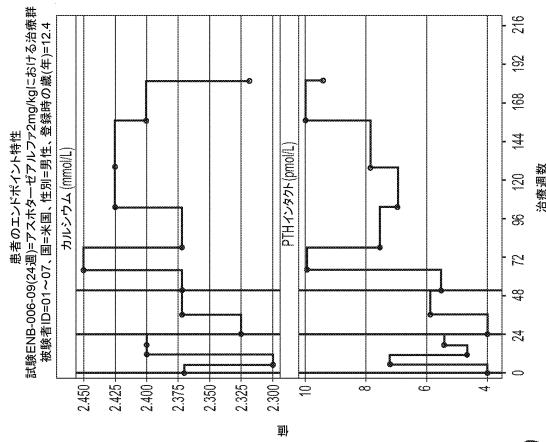


図10

【図 1 1】

図11

アスクターゼアルファ 配列番号1

1 LYPEREKDKP YARDOQETL KYALEQKLN TIVAKYVIMF LGIGMGYSTV
 51 TAARIQGL HNPGBETRL EMDFPEVAL SKTYNTNAQV PDSAGTATAY
 101 LOGVKANEQT VGVSAATERS RONTTQNEV TSILRRAKDA GKSVGIVTT
 151 RYNHATPSM YAHSAIDWY SDNEMKPEAL SQGCKDIAQ LMHNIDIDV
 201 TNGGKRYM PRKNTDVEYE SDEKARTRL DGLDLYDTMK SFKPYKHSH
 251 FTMNRPELLT LDPHNDYLL GUFEPGDMQY ELNRNNTDP SLSEMVVAI
 301 OILRKNPKEF ELVEEGRID HGHHEGAKO ALHEAYEMDR ATGOAGSLTS
 351 SEDTIVVTA DSHVHTFEGG YTERGNSLFG LAPMLSDIDK KPFIAIYGN
 401 GFGCYKVYGG RENVSADYA HNNYQASAV PIRHETHGGE DVAFSRGPM
 451 AHILHGVSHEQ NYYPHMAYA ACIGANLGHCA APASSLKDKT HTCPCTAPE
 501 LLGSPSYELF PPKDILMI SPTPEVLCW DVSHEDDEV KENWVYDGV
 551 VRAKTKPRE EQTNSTWR SVLVLHQIW INGREYKCKV SNKALFAPIE
 601 KTLISKAKGQP REQVYTLPP SREEMTKNOV SLTCVJKGFY PSDIAVEMES
 651 NGOPENNYKT TPEVLSGDS FFLYSLTVD KSRWQGNNVF SCSVMHEALH
 701 NYHTQKSLSL SPSKDIDDD DDDDD

【配列表】

0006868561000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1
	A 6 1 P 43/00 1 2 1

(56)参考文献 特表2007-533669 (JP, A)
特表2013-525379 (JP, A)
特表2009-508820 (JP, A)
特表2015-502346 (JP, A)
特表2007-537263 (JP, A)
MICHAEL P WHYTE, ENZYME-REPLACEMENT THERAPY IN LIFE-THREATENING HYPOPHOSPHATASIA, THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE, 米国, 2012年 3月 8日, PAGE(S):904 - 913, http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJMoa1106173, U R L, http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1106173

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 3 8 / 0 0 - 3 8 / 5 8
A 6 1 K 3 1 / 0 0 - 3 3 / 4 4
A 6 1 K 4 5 / 0 0 - 4 5 / 0 8
A 6 1 P 3 / 0 0
A 6 1 P 4 3 / 0 0
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)