(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2024-542023
(P2024-542023A)
(43)公表日　令和6年11月13日(2024.11.13)

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）	
Ａ６１Ｋ	*35/76*	*(2015.01)*	Ａ６１Ｋ	35/76	ＺＮＡ	４Ｃ０７６	
Ａ６１Ｐ	*3/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	3/00		４Ｃ０８４	
Ａ６１Ｐ	*17/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	17/00		４Ｃ０８６	
Ａ６１Ｐ	*27/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	27/02		４Ｃ０８７	
Ａ６１Ｐ	*25/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/04			

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全86頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-525636(P2024-525636)
(86)(22)出願日　令和4年11月3日(2022.11.3)
(85)翻訳文提出日　令和6年5月14日(2024.5.14)
(86)国際出願番号　PCT/US2022/079249
(87)国際公開番号　WO2023/081781
(87)国際公開日　令和5年5月11日(2023.5.11)
(31)優先権主張番号　63/275,390
(32)優先日　令和3年11月3日(2021.11.3)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/373,826
(32)優先日　令和4年8月29日(2022.8.29)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA
最終頁に続く

(71)出願人　523443180
サンガモ セラピューティクス，インコーポレイテッド
アメリカ合衆国，カリフォルニア州 ９４８０４，リッチモンド，スイート エー１００，５０１ カナル ブールバール
(74)代理人　100114775
弁理士　高岡 亮一
(74)代理人　100121511
弁理士　小田 直
(74)代理人　100202751
弁理士　岩堀 明代
(74)代理人　100208580
弁理士　三好 玲奈
(74)代理人　100191086
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ファブリー病の治療のためのウイルスベクター構築物の使用方法

(57)【要約】
本開示は、体重１キログラムあたり約５×１０^{12}ベクターゲノム（ｖｇ／ｋｇ）～約５×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で、少なくとも１つのα－Ｇａｌ Ａタンパク質をコードするα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ Ａ）導入遺伝子を含む、α－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ Ａ）発現カセットを含む発現ベクター（例えば、ＡＡＶ発現ベクター）を投与することにより、ファブリー病の１つ以上の症状を治療または改善すること、スフィンゴ糖脂質の量を減少させること、及び／または、α－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ Ａ）タンパク質の活性を増加させることを、それを必要とする対象において行うための方法に関する。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
ファブリー病を治療すること、またはファブリー病に関連する１つ以上の症状を改善することを、それを必要とするヒト対象において行う方法であって、前記方法は、アルファ１－アンチトリプシン（ｈＡＡＴ）プロモーターに作動可能に連結されたアポリポタンパク質Ｅ（ＡＰＯＥ）エンハンサー、ヒトヘモグロビンベータ（ＨＢＢ）－ＩＧＧイントロン、シグナルペプチドをコードする配列、少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質をコードするα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）導入遺伝子、及び、ウシ成長ホルモンポリＡシグナル配列を含む、αガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）発現カセットを含む、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）発現ベクターを前記対象に投与することを含み、前記ＡＡＶ発現ベクターは、体重１キログラムあたり約５×１０^{12}ベクターゲノム（ｖｇ／ｋｇ）～約５×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与される、前記方法。
【請求項２】
ファブリー病を治療すること、またはファブリー病に関連する１つ以上の症状を改善することを、それを必要とするヒト対象において行う方法であって、前記方法は、少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質をコードするα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）導入遺伝子を含む、α－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）発現カセットを含む、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）発現ベクターを前記対象に投与することを含み、前記α－Ｇａｌ　Ａ導入遺伝子は、配列番号５に記載のヌクレオチド配列を含み、前記ＡＡＶ発現ベクターは、体重１キログラムあたり約５×１０^{12}ベクターゲノム（ｖｇ／ｋｇ）～約５×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与される、前記方法。
【請求項３】
スフィンゴ糖脂質の量を減少させることを、それを必要とするヒト対象において行う方法であって、前記方法は、アルファ１－アンチトリプシン（ｈＡＡＴ）プロモーターに作動可能に連結されたアポリポタンパク質Ｅ（ＡＰＯＥ）エンハンサー、ヒトヘモグロビンベータ（ＨＢＢ）－ＩＧＧイントロン、シグナルペプチドをコードする配列、少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質をコードするα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）導入遺伝子、及び、ウシ成長ホルモンポリＡシグナル配列を含む、αガラクトシダーゼＡ（α－ＧａｌＡ）発現カセットを含む、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）発現ベクターを前記対象に投与することを含み、前記ＡＡＶ発現ベクターは、体重１キログラムあたり約５×１０^{12}ベクターゲノム（ｖｇ／ｋｇ）～約５×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与され、前記減少したスフィンゴ糖脂質の量は、前記投与前の前記対象における前記スフィンゴ糖脂質の量に対する、前記方法。
【請求項４】
スフィンゴ糖脂質の量を減少させることを、それを必要とするヒト対象において行う方法であって、前記方法は、少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質をコードするα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）導入遺伝子を含むα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）発現カセットを含むアデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）発現ベクターを前記対象に投与することを含み、前記α－Ｇａｌ　Ａ導入遺伝子は、配列番号５に記載のヌクレオチド配列を含み、前記ＡＡＶ発現ベクターは、体重１キログラムあたり約５×１０^{12}ベクターゲノム（ｖｇ／ｋｇ）～約５×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与され、前記減少したスフィンゴ糖脂質の量は、前記投与前の前記対象における前記スフィンゴ糖脂質の量に対する、前記方法。
【請求項５】
α－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）タンパク質の活性を増加させることを、それを必要とするヒト対象において行う方法であって、前記方法は、アルファ１－アンチトリプシン（ｈＡＡＴ）プロモーターに作動可能に連結されたアポリポタンパク質Ｅ（ＡＰＯＥ）エンハンサー、ヒトヘモグロビンベータ（ＨＢＢ）－ＩＧＧイントロン、シグナルペプチドをコードする配列、少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質をコードする前記α－Ｇａｌ　Ａ導入遺伝子、及びウシ成長ホルモンポリＡシグナル配列を含む、αガラ

クトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）発現カセットを含む、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）発現ベクターを前記対象に投与することを含み、前記ＡＡＶ発現ベクターは、体重１キログラムあたり約５×１０^{12}ベクターゲノム（ｖｇ／ｋｇ）～約５×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与され、前記増加したα－Ｇａｌ　Ａタンパク質の活性は、前記投与前の前記対象におけるα－Ｇａｌ　Ａタンパク質の活性に対する、前記方法。

【請求項６】

α－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）タンパク質の活性を増加させることを、それを必要とするヒト対象において行う方法であって、前記方法は、前記少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質をコードするα－Ｇａｌ　Ａ導入遺伝子を含むα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）発現カセットを含む、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）発現ベクターを前記対象に投与することを含み、前記α－Ｇａｌ　Ａ導入遺伝子は、配列番号５に記載のヌクレオチド配列を含み、前記ＡＡＶ発現ベクターは、体重１キログラムあたり約５×１０^{12}ベクターゲノム（ｖｇ／ｋｇ）～約５×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与され、前記増加したα－Ｇａｌ　Ａタンパク質の活性は、前記投与前の前記対象におけるα－Ｇａｌ　Ａタンパク質の活性に対する、前記方法。

【請求項７】

前記対象が、ファブリー病に罹患している、請求項３～６のいずれか一項に記載の方法。

【請求項８】

前記α－Ｇａｌ　Ａ発現カセットが、変異したウッドチャック肝炎ウイルス（ＷＨＶ）転写後調節要素（ＷＰＲＥ）配列をさらに含む、請求項１～７のいずれか一項に記載の方法。

【請求項９】

前記変異ＷＰＲＥ配列が、ｍｕｔ６変異ＷＰＲＥ配列を含む、請求項８に記載の方法。

【請求項１０】

前記α－Ｇａｌ　Ａ発現カセットが、アルファ１－アンチトリプシン（ｈＡＡＴ）プロモーターに作動可能に連結されたアポリポタンパク質Ｅ（ＡＰＯＥ）エンハンサー、ヒトヘモグロビンベータ（ＨＢＢ）－ＩＧＧイントロン、シグナルペプチドをコードする配列、及びウシ成長ホルモンポリＡシグナル配列をさらに含む、請求項２、４、及び６のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１１】

前記導入遺伝子が、野生型α－Ｇａｌ　Ａ配列またはコドン最適化α－Ｇａｌ　Ａ配列を含む、請求項１、３、及び５のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１２】

前記シグナルペプチドが、α－Ｇａｌ　Ａシグナルペプチドである、請求項１、３、５、１０、及び１１のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１３】

前記エンハンサーが、配列番号２に記載の前記ヌクレオチド配列を含み、前記プロモーターが、配列番号３に記載の前記ヌクレオチド配列を含み、前記イントロンが配列番号４に記載の前記ヌクレオチド配列を含み、前記α－Ｇａｌ　Ａ導入遺伝子が配列番号５に記載の前記ヌクレオチド配列を含み、前記変異ＷＰＲＥ配列が、配列番号６に記載の前記ヌクレオチド配列を含み、前記ポリＡシグナル配列が、配列番号７に記載の前記ヌクレオチド配列を含む、請求項８または９に記載の方法。

【請求項１４】

前記エンハンサーが、配列番号２に記載の前記ヌクレオチド配列を含み、前記プロモーターが、配列番号３に記載の前記ヌクレオチド配列を含み、前記イントロンが、配列番号４に記載の前記ヌクレオチド配列を含み、前記変異ＷＰＲＥ配列が、配列番号６に記載の前記ヌクレオチド配列を含み、前記ポリＡシグナル配列が、配列番号７に記載の前記ヌクレオチド配列を含む、請求項８または９に記載の方法。

【請求項１５】

前記α－Ｇａｌ　Ａ発現カセットが、配列番号９に記載の前記ヌクレオチド配列を含む、請求項１～１４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１６】
前記ＡＡＶ発現ベクター血清型が、ＡＡＶ２／６である、請求項１～１５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１７】
前記対象が、正常値を超えるグロボトリアオシルセラミド（Ｇｂ３）レベル、正常値を超えるグロボトリアオシルスフィンゴシン（ｌｙｓｏ－Ｇｂ３）レベル、腎疾患、心臓病、無汗症、肢端感覚異常、被角血管腫、胃腸（ＧＩ）管の痛み、角膜及び水晶体の混濁、または脳血管疾患のうちの１つ以上の症状を有する、請求項１～１６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１８】
前記被角血管腫が、臍周囲被角血管腫である、請求項１７に記載の方法。
【請求項１９】
前記対象が、約５％未満のα－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性を有する、請求項５～１８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２０】
前記α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性が、前記対象の血漿及び／または白血球において測定される、請求項１９に記載の方法。
【請求項２１】
前記対象が、男性対象である、請求項１～２０のいずれかに一項に記載の方法。
【請求項２２】
前記対象が、女性対象である、請求項１～２０のいずれかに一項に記載の方法。
【請求項２３】
前記対象が、ファブリー病を示すα－Ｇａｌ　Ａ遺伝子変異を有する、請求項１～２２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２４】
前記対象が、酵素補充療法（ＥＲＴ）ナイーブ対象である、請求項１９に記載の方法。
【請求項２５】
前記対象が、投与前に、酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ）によって決定される、既存の抗α－Ｇａｌ　Ａ抗体を有する、請求項１～２４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２６】
前記対象の生物学的サンプルを分析すると、前記対象が、抗α－Ｇａｌ　Ａ中和抗体陽性対象であり、前記抗α－Ｇａｌ　Ａ中和抗体陽性対象は、抗α－Ｇａｌ　Ａ中和抗体アッセイによって測定されるα－ガラクトシダーゼＡ活性の阻害が約９．６％を超える生物学的サンプルを有する、請求項１～２５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２７】
前記導入遺伝子から発現された前記α－Ｇａｌ　Ａタンパク質が、前記投与前の前記対象におけるスフィンゴ糖脂質の量と比較して、前記対象における前記スフィンゴ糖脂質の量を少なくとも約２倍減少させる、請求項１～２６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２８】
前記導入遺伝子から発現された前記α－Ｇａｌ　Ａタンパク質が、前記投与前の前記対象におけるスフィンゴ糖脂質の量と比較して、前記対象における前記スフィンゴ糖脂質の量を、約１０パーセント（％）、約１１％、約１２％、約１３％、約１４％、約１５％、約１６％、約１７％、約１８％、約１９％、約２０％、約２１％、約２２％、約２３％、約２４％、約２５％、約２６％、約２７％、約２８％、約２９％、約３０％、約３１％、約３２％、約３３％、約３４％、約３５％、約３６％、約３７％、約３８％、約３９％、約４０％、約４１％、約４２％、約４３％、約４４％、約４５％、約４６％、約４７％、約４８％、約４９％、約５０％、約５１％、約５２％、約５３％、約５４％、約５５％、約５６％、約５７％、約５８％、約５９％、約６０％、約６１％、約６２％、約６３％、

約６４％、約６５％、約６６％、約６７％、約６８％、約６９％、約７０％、約７１％、約７２％、約７３％、約７４％、約７５％、約７６％、約７７％、約７８％、約７９％、約８０％、約８１％、約８２％、約８３％、約８４％、約８５％、約８６％、約８７％、約８８％、約８９％、約９０％、約９１％、約９２％、約９３％、約９４％、約９５％、約９６％、約９７％、約９８％、約９９％、または約１００％減少させる、請求項１～２６のいずれか一項に記載の方法。

【請求項２９】

前記導入遺伝子から発現された前記α－Ｇａｌ　Ａタンパク質が、前記対象におけるスフィンゴ糖脂質の量を前記投与前と同じレベルに維持する、請求項１、２、及び５～２６のいずれか一項に記載の方法。

【請求項３０】

前記スフィンゴ糖脂質が、グロボトリアオシルセラミド（Ｇｂ３）、グロボトリアオシルスフィンゴシン（ｌｙｓｏ－Ｇｂ３）、ガラビオシルセラミド、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項３、４、及び７～２９のいずれか一項に記載の方法。

【請求項３１】

Ｇｂ３及び／またはｌｙｓｏ－Ｇｂ３レベルが、前記対象の血漿、組織、及び／または尿中で測定される、請求項３０に記載の方法。

【請求項３２】

前記導入遺伝子から発現される前記α－Ｇａｌ　Ａタンパク質が、血漿、肝臓、心臓、腎臓、尿、皮膚、または脾臓のうちの１つ以上中の前記スフィンゴ糖脂質の量を減少させる、請求項１～２８及び３０～３１のいずれか一項に記載の方法。

【請求項３３】

前記対象における前記α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性が、前記投与前の前記対象の前記α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性と比較して、平均正常α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性よりも約０倍高い～約２倍高い、約２倍高い～約５倍高い、約５倍高い～約１０倍高い、約１０倍高い～約２０倍高い、約２０倍高い～約３０倍高い、約３０倍高い～約４０倍高い、約３０倍高い～約４０倍高い、約４０倍高い～約５０倍高い、約５０倍高い～約６０倍高い、約６０倍高い～約７０倍高い、約７０倍高い～約８０倍高い、約８０倍高い～約９０倍高い、約９０倍高い～約１００倍高い、約１００倍高い～約２００倍高い、約２００倍高い～約３００倍高い、約３００倍高い～約４００倍高い、約４００倍高い～約５００倍高い、請求項５～３２のいずれか一項に記載の方法。

【請求項３４】

前記対象における前記α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性が、前記投与前の前記対象の前記α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性と比較して、前記平均正常α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性よりも約０倍高い～約２倍高い、約２倍高い、約３倍高い、約４倍高い、約５倍高い、約６倍高い、約７倍高い、約８倍高い、約９倍高い、約１０倍高い、約１１倍高い、約１２倍高い、約１３倍高い、約１４倍高い、約１５倍高い、約１６倍高い、約１７倍高い、約１８倍高い、約１９倍高い、約２０倍高い、約２１倍高い、約２２倍高い、約２３倍高い、約２４倍高い、約２５倍高い、約２６倍高い、約２７倍高い、約２８倍高い、約２９倍高い、約３０倍高い、約３１倍高い、約３２倍高い、約３３倍高い、約３４倍高い、約３５倍高い、約３６倍高い、約３７倍高い、約３８倍高い、約３９倍高い、約４０倍高い、約４１倍高い、約４２倍高い、約４３倍高い、約４４倍高い、約４５倍高い、約４６倍高い、約４７倍高い、約４８倍高い、約４９倍高い、約５０倍高い、約５１倍高い、約５２倍高い、約５３倍高い、約５４倍高い、約５５倍高い、約５６倍高い、約５７倍高い、約５８倍高い、約５９倍高い、約６０倍高い、約６１倍高い、約６２倍高い、約６３倍高い、約６４倍高い、約６５倍高い、約６６倍高い、約６７倍高い、約６８倍高い、約６９倍高い、約７０倍高い、約７１倍高い、約７２倍高い、約７３倍高い、約７４倍高い、約７５倍高い、約７６倍高い、約７７倍高い、約７８倍高い、約７９倍高い、約８０倍高い、約８１倍高い、約８２倍高い、約８３倍高い、約８４倍高い、約８５倍高い、約８６倍高い、約８７倍高い、約８８倍高い、約８９倍高い、約９０倍高い、約９１倍高い、約９２

倍高い、約９３倍高い、約９４倍高い、約９５倍高い、約９６倍高い、約９７倍高い、約９８倍高い、約９９倍高い、または約１００倍高い、請求項３３に記載の方法。

【請求項３５】

前記導入遺伝子から発現される前記α－Ｇａｌ　Ａタンパク質のレベルが、前記対象の血漿、血清、全血、乾燥血液スポット、白血球、またはその他の血液成分の１つ以上で測定される、請求項１～３４にいずれか一項に記載の方法。

【請求項３６】

前記導入遺伝子から発現される前記α－Ｇａｌ　Ａタンパク質が、前記対象の腎臓、肝臓、皮膚、及び心臓で活性である、請求項１～３５のいずれか一項に記載の方法。

【請求項３７】

前記ＡＡＶ発現ベクターが、非経口投与される、請求項１～３６のいずれか一項に記載の方法。

【請求項３８】

前記ＡＡＶ発現ベクターが、静脈内投与される、請求項１～３７のいずれか一項に記載の方法。

【請求項３９】

前記ＡＡＶ発現ベクターが、薬学的に許容される担体で投与される、請求項１～３８のいずれか一項に記載の方法。

【請求項４０】

前記薬学的に許容される担体が、$CaCl_2$、$MgCl_2$、ＮａＣｌ、スクロース、及びＫｏｌｌｉｐｈｏｒ（ポロキサマー）Ｐ１８８を含有するリン酸緩衝食塩水を含む、請求項３９に記載の方法。

【請求項４１】

前記ＡＡＶ発現ベクターが、１用量のみ前記対象に投与される、請求項１～４０のいずれか一項に記載の方法。

【請求項４２】

前記ＡＡＶ発現ベクターが、約5×10^{12}ｖｇ／ｋｇの用量で投与される、請求項１～４１のいずれか一項に記載の方法。

【請求項４３】

前記ＡＡＶ発現ベクターが、約1×10^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与される、請求項１～４１のいずれか一項に記載の方法。

【請求項４４】

前記ＡＡＶ発現ベクターが、約3×10^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与される、請求項１～４１のいずれか一項に記載の方法。

【請求項４５】

前記ＡＡＶ発現ベクターが、約5×10^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与される、請求項１～４１のいずれか一項に記載の方法。

【請求項４６】

前記対象が、前記ＡＡＶ発現ベクターの投与前及び／または投与中に免疫抑制剤を投与される、請求項１～４５のいずれか一項に記載の方法。

【請求項４７】

前記免疫抑制剤が、プレドニゾンを含む、請求項４６に記載の方法。

【請求項４８】

前記対象が、前記ＡＡＶ発現ベクターの投与前及び／または投与中に免疫抑制剤を投与されない、請求項１～４５のいずれか一項に記載の方法。

【請求項４９】

前記対象が、前記ＡＡＶ発現ベクターの投与前にプレコンディショニング療法を施行されない、請求項１～４８のいずれか一項に記載の方法。

【請求項５０】

前記少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質の発現が、少なくとも３か月、少なく

とも４か月、少なくとも５か月、少なくとも６か月、少なくとも７か月、少なくとも８か月、少なくとも９か月、少なくとも１０か月、少なくとも１１か月、少なくとも１２か月、少なくとも１３か月、少なくとも１４か月、少なくとも１５か月、少なくとも１６か月、少なくとも１７か月、少なくとも１８か月、少なくとも１９か月、少なくとも２０か月、少なくとも２１か月、少なくとも２２か月、少なくとも２３か月、または少なくとも２４か月持続される、請求項１～５０のいずれか一項に記載の方法。

【請求項５１】

前記投与後、前記対象において、慢性腎臓病疫学協力（ＣＫＤ－ＥＰＩ）方程式を使用して推算糸球体濾過量（ｅＧＦＲ）（ｍｌ／分／１．７３ｍ^{2}単位）が測定される、請求項１～５０のいずれか一項に記載の方法。

【請求項５２】

年間ｅＧＦＲ低下率が、同等のファブリー病に罹患した未治療の対象よりも低い、請求項５１に記載の方法。

【請求項５３】

前記投与後、前記対象において、一回拍出量（ＳＶ）／左室拡張末期容積（ＬＶＥＤＶ）として駆出率（ＥＦ）が測定される、請求項１～５２のいずれか一項に記載の方法。

【請求項５４】

年間ＥＦ低下率が、同等のファブリー病に罹患した未治療の対象よりも低い、請求項５３に記載の方法。

【請求項５５】

前記投与後、前記対象において、２次元（２Ｄ）ひずみ心エコー検査または心臓磁気共鳴画像法（心臓ＭＲＩまたはＣＭＲ）によって全体縦方向ひずみ（ＧＬＳ）が測定される、請求項１～５４のいずれか一項に記載の方法。

【請求項５６】

心臓の筋肉の収縮性の年間短縮化進行が、同等のファブリー病に罹患した未治療の対象よりも低い、請求項５５に記載の方法。

【請求項５７】

前記投与後、前記対象において、左室質量（ＬＶＭ）／体表面積としての左室質量指数（ＬＶＭＩ）が測定される、請求項１～５６のいずれか一項に記載の方法。

【請求項５８】

年間ＬＶＭＩ増加が、同等のファブリー病に罹患した未治療の対象における増加よりも低い、請求項５７に記載の方法。

【請求項５９】

前記投与後、前記対象における１つ以上の聴覚症状が改善される、請求項１～５８のいずれか一項に記載の方法。

【請求項６０】

前記１つ以上の聴覚症状が、耳鳴り、めまい、または進行性の難聴である、請求項５９に記載の方法。

【請求項６１】

前記対象の発汗レベルが、無汗症から低汗症または正常発汗へと好転した、請求項１～６０のいずれか一項に記載の方法。

【請求項６２】

前記対象は、前記投与前にファブリー病に対する酵素補充療法（ＥＲＴ）が施行されている（「前治療」）、請求項１～６１のいずれか一項に記載の方法。

【請求項６３】

前記前治療のための前記酵素補充療法が、組み換えα－ガラクトシダーゼＡ（ＧＬＡ）タンパク質またはＧＡＬを発現する遺伝子を含む、請求項６２に記載の方法。

【請求項６４】

前記前治療のための前記酵素補充療法が、ガラフォールド、ＡＶＲ－ＲＤ－０１、ＦＬＴ－１９０、ペグニガルシダーゼアルファ、４Ｄ－３１０、またはそれらの任意の組み合

わせを投与することを含む、請求項６２または６３に記載の方法。
【請求項６５】
前記前治療のための前記酵素補充療法が、ＧＬＡの活性部位特異的シャペロン（ＡＳＳＣ）と組み合わせた組み換えα－ガラクトシダーゼＡ（ＧＬＡ）タンパク質を含む、請求項６２～６４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６６】
前記ＡＳＳＣが、１－デオキシガラクトノジリマイシンである、請求項６５に記載の方法。
【請求項６７】
前記前治療のための前記酵素補充療法が、アガルシダーゼアルファ及び／またはベータ、あるいはアガルシダーゼアルファ及び／またはベータを発現する遺伝子を含む、請求項６２または６３に記載の方法。
【請求項６８】
前記前治療のための前記酵素補充療法が、ファブラザイム、リプレガル、ＰＲＸ－１０２、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項６７に記載の方法。
【請求項６９】
前記前治療のための前記酵素補充療法が、遺伝子療法を含む、請求項６３または６８に記載の方法。
【請求項７０】
前記遺伝子療法が、前記酵素をコードするベクターを含む、請求項６９に記載の方法。
【請求項７１】
前記遺伝子療法が、ＡＶＲ－ＲＤ－０１、ＦＬＴ－１９０、ペグニガルシダーゼアルファ、４Ｄ－３１０、またはそれらの任意の組み合わせを投与することを含む、請求項６９に記載の方法。
【請求項７２】
前記ベクターが、ヒトＧＬＡタンパク質あるいはアガルシダーゼアルファ及び／またはベータをコードするｍＲＮＡを含む、請求項７０に記載の方法。
【請求項７３】
前記ベクターが、ウイルスベクターである、請求項７０に記載の方法。
【請求項７４】
前記ウイルスベクターが、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）ベクターまたはレンチウイルスベクターを含む、請求項７３に記載の方法。
【請求項７５】
前記遺伝子療法が、脂質ナノ粒子によって送達される、請求項６９に記載の方法。
【請求項７６】
前記対象が、前記投与前にファブリー病に対する非酵素補充療法が施行されている（「前治療」）、請求項１～６１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項７７】
前記ファブリー病のための前記前治療療法が、ルセラスタット、ベングルスタット、アパベタロン、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項７６に記載の方法。
【請求項７８】
ファブリー病が、１型の古典型表現型または２型の遅発型表現型である方法、請求項１、２、及び７～７７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項７９】
前記α－Ｇａｌ　Ａ発現カセットが、逆位末端反復配列（ＩＴＲ）と両端で隣接している、請求項１～７８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項８０】
前記ＩＴＲが、アデノ随伴ウイルス２型（ＡＡＶ２）に由来する、請求項７９に記載の方法。
【請求項８１】

前記ＡＡＶ発現ベクターが、アデノ随伴ウイルス由来のカプシドとともにパッケージングされた前記α－Ｇａｌ　Ａ発現カセットをさらに含む、請求項１～８０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項８２】
前記α－Ｇａｌ　Ａ発現カセットが、アデノ随伴ウイルス６型（ＡＡＶ６）由来のカプシドとともにパッケージングされている、請求項８１に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０２１年１１月３日に出願された米国仮特許出願第６３／２７５，３９０号、及び２０２２年８月２９日に出願された米国仮特許出願第６３／３７３，８２６号の出願日の利益を主張し、それら両方の全体内容は、参照することにより本明細書に組み込まれる。
【０００２】
電子的に提出された配列リストの参照
出願時に提出されたＡＳＣＩＩテキストファイル形式の電子提出配列リスト（名称：４３４１＿０２４ＰＣ０２＿Ｓｅｑｌｉｓｔｉｎｇ＿ＳＴ２６、サイズ：１６，２８０バイト、作成日：２０２２年１１月２日）の内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。
【０００３】
本開示は、治療有効量の少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質をコードするα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）導入遺伝子を含む発現ベクター（例えば、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）発現ベクター）を投与することにより、ファブリー病の１つ以上の症状を治療または改善すること、スフィンゴ糖脂質の量を減少させること、及び／または、α－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）タンパク質の活性を増加させることを、それを必要とする対象において行うための方法に関する。
【背景技術】
【０００４】
ファブリー病は、α－ガラクトシダーゼＡ（ＧＬＡ）酵素の欠乏によって起こるＸ連鎖性リソソーム蓄積疾患である。その結果、グロボトリアオシルセラミド（Ｇｂ３）の末端α－ガラクトシル部分が加水分解されず、リソソームや細胞内の他の場所にＧｂ３が蓄積される。初期の特徴的な臨床症状には、重度の神経障害性疼痛（肢端感覚異常）、皮膚病変（被角血管腫）、眼症状（渦巻状角膜混濁）が含まれる。高齢になると、心臓、腎臓、脳血管の合併症が重篤な病状を引き起こし、寿命を縮める原因となる。Ｄｅｓｎｉｃｋ ｅｔ ａｌ．，α－Ｇａｌａｃｔｏｓｉｄａｓｅ Ａ Ｄｅｆｉｃｉｅｎｃｙ：Ｆａｂｒｙ Ｄｉｓｅａｓｅ，ｉｎ：Ｂｅａｕｄｅｔ ｅｔ ａｌ．（Ｅｄ．），Ｔｈｅ Ｏｎｌｉｎｅ Ｍｅｔａｂｏｌｉｃ ａｎｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂａｓｅｓ ｏｆ Ｉｎｈｅｒｉｔｅｄ Ｄｉｓｅａｓｅ，Ｔｈｅ ＭｃＧｒａｗ－Ｈｉｌｌ Ｃｏｍｐａｎｉｅｓ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ＮＹ（２０１４）；Ｖａｎ ｄｅｒ Ｖｅｅｎ ＳＪ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ Ｇｅｎｅｔ Ｍｅｔａｂ．１２６（２）：１６２－１６８（２０１９）。
【０００５】
２００１年以来、ファブリー病患者は、組み換え酵素（アガルシダーゼα及びアガルシダーゼβ）の注入に基づく２つの異なる酵素補充療法（ＥＲＴ）で治療されてきた。Ｅｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｎ Ｅｎｇｌ Ｊ Ｍｅｄ ３４５：９－１６（２００１）；Ｓｃｈｉｆｆｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，ＪＡＭＡ２８５：２７４３－２７４９（２００１）；Ｌｅｎｄｅｒｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ａｍ Ｓｏｃ Ｎｅｐｈｒｏｌ．２７（１）：２５６－６４（２０１６）。このような治療は症状を治療するだけで治癒させるものではないため、患者は生涯にわたってこれらのタンパク質を繰り返し投与されなければならない。

【０００６】
試験によると、組み換え酵素の注入により抗ＧＬＡ中和抗体が形成され、短期的な急性合併症が発生するだけでなく、治療阻害による長期的な悪影響も発生し、Ｇｂ３とｌｙｓｏ－Ｇｂ３の著しい減少につながる可能性があることを示唆している。Ｌｅｎｄｅｒｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ａｍ Ｓｏｃ Ｎｅｐｈｒｏｌ．２７（１）：２５６－６４（２０１６）。典型的なファブリー病の男性患者の場合、ＥＲＴによる治療は、特に不可逆的な臓器障害の発症前に治療を開始すると、合併症の発生を遅らせる。しかし、ＥＲＴ治療を受けた典型的な罹患男性患者の半数超が抗ＧＬＡ中和抗体を発現する。女性患者及び非典型的な疾患表現型の患者では、投与された組み換え酵素に対する抗体形成が観察されるのはまれである。Ｖａｎ ｄｅｒ Ｖｅｅｎ ＳＪ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ Ｇｅｎｅｔ Ｍｅｔａｂ． １２６（２）：１６２－１６８ （２０１９）。

【０００７】
したがって、例えば、発現した導入遺伝子でコードされた遺伝子産物を治療上適切なレベルで送達するためのゲノム編集による治療を含め、ファブリー病の治療に使用できる非ＥＲＴ方法及び組成物の必要性が、依然として残されている。

【本開示の概要】

【０００８】
いくつかの態様において、本明細書では、ファブリー病を治療すること、またはファブリー病に関連する１つ以上の症状を改善することを、それを必要とするヒト対象において行う方法が提供され、本方法は、アルファ１－アンチトリプシン（ｈＡＡＴ）プロモーターに作動可能に連結されたアポリポタンパク質Ｅ（ＡＰＯＥ）エンハンサー、ヒトヘモグロビンベータ（ＨＢＢ）－ＩＧＧイントロン、シグナルペプチドをコードする配列、少なくとも１つのα－Ｇａｌ Ａタンパク質をコードするα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ Ａ）導入遺伝子、及び、ウシ成長ホルモンポリＡシグナル配列を含む、αガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ Ａ）発現カセットを含む、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）発現ベクターを対象に投与することを含み、ＡＡＶ発現ベクターは、体重１キログラムあたり約５×１０^{12}ベクターゲノム（ｖｇ／ｋｇ）～約５×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与される。

【０００９】
いくつかの態様において、本明細書では、ファブリー病を治療すること、またはファブリー病に関連する１つ以上の症状を改善することを、それを必要とするヒト対象において行う方法が提供され、本方法は、少なくとも１つのα－Ｇａｌ Ａタンパク質をコードするα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ Ａ）導入遺伝子を含む、α－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ Ａ）発現カセットを含む、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）発現ベクターを対象に投与することを含み、α－Ｇａｌ Ａ導入遺伝子は、配列番号５に記載のヌクレオチド配列を含み、ＡＡＶ発現ベクターは、体重１キログラムあたり約５×１０^{12}ベクターゲノム（ｖｇ／ｋｇ）～約５×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与される。

【００１０】
いくつかの態様において、本明細書では、スフィンゴ糖脂質の量を減少させることを、それを必要とするヒト対象において行う方法が提供され、本方法は、アルファ１－アンチトリプシン（ｈＡＡＴ）プロモーターに作動可能に連結されたアポリポタンパク質Ｅ（ＡＰＯＥ）エンハンサー、ヒトヘモグロビンベータ（ＨＢＢ）－ＩＧＧイントロン、シグナルペプチドをコードする配列、少なくとも１つのα－Ｇａｌ Ａタンパク質をコードするα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ Ａ）導入遺伝子、及び、ウシ成長ホルモンポリＡシグナル配列を含む、αガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ Ａ）発現カセットを含む、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）発現ベクターを対象に投与することを含み、ＡＡＶ発現ベクターは、体重１キログラムあたり約５×１０^{12}ベクターゲノム（ｖｇ／ｋｇ）～約５×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与され、減少したスフィンゴ糖脂質の量は、投与前の対象におけるスフィンゴ糖脂質の量に対する。

【００１１】

いくつかの態様において、本明細書では、スフィンゴ糖脂質の量を減少させることを、それを必要とするヒト対象において行う方法が提供され、本方法は、少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質をコードするα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）導入遺伝子を含むα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）発現カセットを含むアデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）発現ベクターを対象に投与することを含み、α－Ｇａｌ　Ａ導入遺伝子は、配列番号５に記載のヌクレオチド配列を含み、ＡＡＶ発現ベクターは、体重１キログラムあたり約５×１０^{12}ベクターゲノム（ｖｇ／ｋｇ）～約５×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与され、減少したスフィンゴ糖脂質の量は、投与前の対象におけるスフィンゴ糖脂質の量に対する。

【００１２】

いくつかの態様において、本明細書では、α－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）タンパク質の活性を増加させることを、それを必要とするヒト対象において行う方法が提供され、本方法は、アルファ１－アンチトリプシン（ｈＡＡＴ）プロモーターに作動可能に連結されたアポリポタンパク質Ｅ（ＡＰＯＥ）エンハンサー、ヒトヘモグロビンベータ（ＨＢＢ）－ＩＧＧイントロン、シグナルペプチドをコードする配列、少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質をコードするα－Ｇａｌ　Ａ導入遺伝子、及びウシ成長ホルモンポリＡシグナル配列を含む、αガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）発現カセットを含む、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）発現ベクターを対象に投与することを含み、ＡＡＶ発現ベクターは、体重１キログラムあたり約５×１０^{12}ベクターゲノム（ｖｇ／ｋｇ）～約５×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与され、増加したα－Ｇａｌ　Ａタンパク質の活性は、投与前の対象におけるα－Ｇａｌ　Ａタンパク質の活性に対する。

【００１３】

いくつかの態様において、本明細書では、α－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）タンパク質の活性を増加させることを、それを必要とするヒト対象において行う方法が提供され、本方法は、少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質をコードするα－Ｇａｌ　Ａ導入遺伝子を含むα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）発現カセットを含む、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）発現ベクターを対象に投与することを含み、α－Ｇａｌ　Ａ導入遺伝子は、配列番号５に記載のヌクレオチド配列を含み、ＡＡＶ発現ベクターは、体重１キログラムあたり約５×１０^{12}ベクターゲノム（ｖｇ／ｋｇ）～約５×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与され、増加したα－Ｇａｌ　Ａタンパク質の活性は、投与前の対象におけるα－Ｇａｌ　Ａタンパク質の活性に対する。

【００１４】

いくつかの態様において、対象は、ファブリー病に罹患している。

【００１５】

いくつかの態様において、α－Ｇａｌ　Ａ発現カセットは、変異したウッドチャック肝炎ウイルス（ＷＨＶ）転写後調節要素（ＷＰＲＥ）配列をさらに含む。

【００１６】

いくつかの態様において、変異ＷＰＲＥ配列は、ｍｕｔ６変異ＷＰＲＥ配列を含む。

【００１７】

いくつかの態様において、α－Ｇａｌ　Ａ発現カセットは、アルファ１－アンチトリプシン（ｈＡＡＴ）プロモーターに作動可能に連結されたアポリポタンパク質Ｅ（ＡＰＯＥ）エンハンサー、ヒトヘモグロビンベータ（ＨＢＢ）－ＩＧＧイントロン、シグナルペプチドをコードする配列、及びウシ成長ホルモンポリＡシグナル配列をさらに含む。

【００１８】

いくつかの態様において、導入遺伝子は、野生型α－Ｇａｌ　Ａ配列またはコドン最適化α－Ｇａｌ　Ａ配列を含む。

【００１９】

いくつかの態様において、シグナルペプチドは、α－Ｇａｌ　Ａシグナルペプチドである。

【００２０】

いくつかの態様において、エンハンサーは配列番号２に記載のヌクレオチド配列を含み、プロモーターは配列番号３に記載のヌクレオチド配列を含み、イントロンは配列番号４に記載のヌクレオチド配列を含み、α－Ｇａｌ　Ａ導入遺伝子は配列番号５に記載のヌクレオチド配列を含み、変異ＷＰＲＥ配列は配列番号６に記載のヌクレオチド配列を含み、ポリＡシグナル配列は配列番号７に記載のヌクレオチド配列を含む。

【００２１】

いくつかの態様において、エンハンサーは配列番号２に記載のヌクレオチド配列を含み、プロモーターは配列番号３に記載のヌクレオチド配列を含み、イントロンは配列番号４に記載のヌクレオチド配列を含み、変異ＷＰＲＥ配列は配列番号６に記載のヌクレオチド配列を含み、ポリＡシグナル配列は配列番号７に記載のヌクレオチド配列を含む。

【００２２】

いくつかの態様において、α－Ｇａｌ　Ａ発現カセットは、配列番号９に記載のヌクレオチド配列を含む。

【００２３】

いくつかの態様において、ＡＡＶ発現ベクター血清型は、ＡＡＶ２／６である。

【００２４】

いくつかの態様において、α－Ｇａｌ　Ａ発現カセットは、逆位末端反復配列（ＩＴＲ）と両端で隣接している。いくつかの態様において、ＩＴＲは、アデノ随伴ウイルス２型（ＡＡＶ２）に由来する。いくつかの態様において、ＡＡＶ発現ベクターは、ＡＡＶ２由来のＩＴＲと両端で隣接するα－Ｇａｌ　Ａ発現カセットをさらに含み、α－Ｇａｌ　Ａ発現カセットは、アデノ随伴ウイルス６型（ＡＡＶ６）由来のカプシドとともにパッケージ化されている。

【００２５】

いくつかの態様において、対象は、正常値を超えるグロボトリアオシルセラミド（Ｇｂ３）レベル、正常値を超えるグロボトリアオシルスフィンゴシン（ｌｙｓｏ－Ｇｂ３）レベル、腎疾患、心臓病、無汗症、肢端感覚異常、被角血管腫、胃腸（ＧＩ）管の痛み、角膜及び水晶体の混濁、または脳血管疾患のうちの１つ以上の症状を有する。いくつかの態様において、被角血管腫は、臍周囲被角血管腫である。

【００２６】

いくつかの態様において、対象は、約５％未満のα－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性を有する。

【００２７】

いくつかの態様において、α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性は、対象の血漿及び／または白血球において測定される。

【００２８】

いくつかの態様において、対象は、男性対象である。いくつかの態様において、対象は、女性対象である。

【００２９】

いくつかの態様において、対象は、ファブリー病を示すα－Ｇａｌ　Ａ遺伝子変異を有する。いくつかの態様において、α－Ｇａｌ　Ａ遺伝子変異は、アミノ酸変異Ｇ２６１Ｄ、Ｃ４２２Ｔ、Ｗ３４０Ｒ、Ｓ２９７Ｙ、Ｑ２８３Ｘ、Ｄ２１５Ｓ、ＩＶＳ５／ｃ．８０１＋３Ａ＞Ｇ、Ｐ３６２Ｌ、Ｃ４２２Ｔ、またはＮ３４Ｓをもたらす。

【００３０】

いくつかの態様において、対象は、投与前に、酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ）によって決定される、既存の抗α－Ｇａｌ　Ａ抗体を有する。

【００３１】

いくつかの態様において、対象の生物学的サンプルを分析すると、対象は、抗α－Ｇａｌ　Ａ中和抗体陽性対象であり、抗α－Ｇａｌ　Ａ中和抗体陽性対象は、抗α－Ｇａｌ　Ａ中和抗体アッセイによって測定されるα－ガラクトシダーゼＡ活性の阻害が約９．６％を超える生物学的サンプルを有する。

【００３２】
いくつかの態様において、導入遺伝子から発現されたα－Ｇａｌ　Ａタンパク質は、投与前の対象におけるスフィンゴ糖脂質の量と比較して、対象におけるスフィンゴ糖脂質の量を少なくとも約２倍減少させる。
【００３３】
いくつかの態様において、導入遺伝子から発現されたα－Ｇａｌ　Ａタンパク質は、投与前の対象におけるスフィンゴ糖脂質の量と比較して、対象におけるスフィンゴ糖脂質の量を、約１０パーセント（％）、約１１％、約１２％、約１３％、約１４％、約１５％、約１６％、約１７％、約１８％、約１９％、約２０％、約２１％、約２２％、約２３％、約２４％、約２５％、約２６％、約２７％、約２８％、約２９％、約３０％、約３１％、約３２％、約３３％、約３４％、約３５％、約３６％、約３７％、約３８％、約３９％、約４０％、約４１％、約４２％、約４３％、約４４％、約４５％、約４６％、約４７％、約４８％、約４９％、約５０％、約５１％、約５２％、約５３％、約５４％、約５５％、約５６％、約５７％、約５８％、約５９％、約６０％、約６１％、約６２％、約６３％、約６４％、約６５％、約６６％、約６７％、約６８％、約６９％、約７０％、約７１％、約７２％、約７３％、約７４％、約７５％、約７６％、約７７％、約７８％、約７９％、約８０％、約８１％、約８２％、約８３％、約８４％、約８５％、約８６％、約８７％、約８８％、約８９％、約９０％、約９１％、約９２％、約９３％、約９４％、約９５％、約９６％、約９７％、約９８％、約９９％、または約１００％減少させる。
【００３４】
いくつかの態様において、導入遺伝子から発現されたα－Ｇａｌ　Ａタンパク質は、対象におけるスフィンゴ糖脂質の量を投与前と同じレベルに維持する。
【００３５】
いくつかの態様において、スフィンゴ糖脂質は、グロボトリアオシルセラミド（Ｇｂ３）、グロボトリアオシルスフィンゴシン（ｌｙｓｏ－Ｇｂ３）、ガラビオシルセラミド、またはそれらの任意の組み合わせを含む。
【００３６】
いくつかの態様において、Ｇｂ３及び／またはｌｙｓｏ－Ｇｂ３レベルは、対象の血漿及び／または尿中で測定される。
【００３７】
いくつかの態様において、Ｇｂ３及び／またはｌｙｓｏ－Ｇｂ３レベルは、対象の組織中で測定される。
【００３８】
いくつかの態様において、導入遺伝子から発現されるα－Ｇａｌ　Ａタンパク質は、血漿、肝臓、心臓、腎臓、尿、皮膚、または脾臓のうちの１つ以上中のスフィンゴ糖脂質の量を減少させる。
【００３９】
いくつかの態様において、対象におけるα－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性は、投与前の対象のα－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性と比較して、平均正常α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性よりも約０倍高い～約２倍高い、約２倍高い～約５倍高い、約５倍高い～約１０倍高い、約１０倍高い～約２０倍高い、約２０倍高い～約３０倍高い、約３０倍高い～約４０倍高い、約３０倍高い～約４０倍高い、約４０倍高い～約５０倍高い、約５０倍高い～約６０倍高い、約６０倍高い～約７０倍高い、約７０倍高い～約８０倍高い、約８０倍高い～約９０倍高い、約９０倍高い～約１００倍高い、約１００倍高い～約２００倍高い、約２００倍高い～約３００倍高い、約３００倍高い～約４００倍高い、約４００倍高い～約５００倍高い。
【００４０】
いくつかの態様において、対象におけるα－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性は、投与前の対象のα－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性と比較して、平均正常α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性よりも約０倍高い～約２倍高い、約２倍高い、約３倍高い、約４倍高い、約５倍高い、約

６倍高い、約７倍高い、約８倍高い、約９倍高い、約１０倍高い、約１１倍高い、約１２倍高い、約１３倍高い、約１４倍高い、約１５倍高い、約１６倍高い、約１７倍高い、約１８倍高い、約１９倍高い、約２０倍高い、約２１倍高い、約２２倍高い、約２３倍高い、約２４倍高い、約２５倍高い、約２６倍高い、約２７倍高い、約２８倍高い、約２９倍高い、約３０倍高い、約３１倍高い、約３２倍高い、約３３倍高い、約３４倍高い、約３５倍高い、約３６倍高い、約３７倍高い、約３８倍高い、約３９倍高い、約４０倍高い、約４１倍高い、約４２倍高い、約４３倍高い、約４４倍高い、約４５倍高い、約４６倍高い、約４７倍高い、約４８倍高い、約４９倍高い、約５０倍高い、約５１倍高い、約５２倍高い、約５３倍高い、約５４倍高い、約５５倍高い、約５６倍高い、約５７倍高い、約５８倍高い、約５９倍高い、約６０倍高い、約６１倍高い、約６２倍高い、約６３倍高い、約６４倍高い、約６５倍高い、約６６倍高い、約６７倍高い、約６８倍高い、約６９倍高い、約７０倍高い、約７１倍高い、約７２倍高い、約７３倍高い、約７４倍高い、約７５倍高い、約７６倍高い、約７７倍高い、約７８倍高い、約７９倍高い、約８０倍高い、約８１倍高い、約８２倍高い、約８３倍高い、約８４倍高い、約８５倍高い、約８６倍高い、約８７倍高い、約８８倍高い、約８９倍高い、約９０倍高い、約９１倍高い、約９２倍高い、約９３倍高い、約９４倍高い、約９５倍高い、約９６倍高い、約９７倍高い、約９８倍高い、約９９倍高い、または約１００倍高い。

【００４１】

いくつかの態様において、導入遺伝子から発現されるα－Ｇａｌ　Ａタンパク質のレベルは、対象の血漿、血清、全血、乾燥血液スポット、白血球、またはその他の血液成分の１つ以上で測定される。

【００４２】

いくつかの態様において、導入遺伝子から発現されるα－Ｇａｌ　Ａタンパク質は、対象の腎臓、肝臓、皮膚、及び心臓で活性である。

【００４３】

いくつかの態様において、ＡＡＶ発現ベクターは、非経口的に投与される。いくつかの態様において、ＡＡＶ発現ベクターは、静脈内投与される。

【００４４】

いくつかの態様において、ＡＡＶ発現ベクターは、薬学的に許容される担体で投与される。いくつかの態様において、薬学的に許容される担体は、$CaCl_2$、$MgCl_2$、ＮａＣｌ、スクロース、及びＫｏｌｌｉｐｈｏｒ（ポロキサマー）Ｐ１８８を含有するリン酸緩衝食塩水を含む。

【００４５】

いくつかの態様において、ＡＡＶ発現ベクターが、１用量のみ対象に投与される。いくつかの態様において、ＡＡＶ発現ベクターは、約5×10^{12}ｖｇ／ｋｇの用量で投与される。いくつかの態様において、ＡＡＶ発現ベクターは、約1×10^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与される。いくつかの態様において、ＡＡＶ発現ベクターは、約3×10^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与される。いくつかの態様において、ＡＡＶ発現ベクターは、約5×10^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与される。

【００４６】

いくつかの態様において、対象には、ＡＡＶ発現ベクターの投与前及び／または投与中に免疫抑制剤が投与される。いくつかの態様において、免疫抑制剤は、プレドニゾンを含む。

【００４７】

いくつかの態様において、対象には、ＡＡＶ発現ベクターの投与前及び／または投与中に免疫抑制剤が投与されない。

【００４８】

いくつかの態様において、対象には、ＡＡＶ発現ベクターの投与前にプレコンディショニング療法が施行されない。

【００４９】

いくつかの態様において、少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質の発現は、少なくとも３か月、少なくとも４か月、少なくとも５か月、少なくとも６か月、少なくとも７か月、少なくとも８か月、少なくとも９か月、少なくとも１０か月、少なくとも１１か月、少なくとも１２か月、少なくとも１３か月、少なくとも１４か月、少なくとも１５か月、少なくとも１６か月、少なくとも１７か月、少なくとも１８か月、少なくとも１９か月、少なくとも２０か月、少なくとも２１か月、少なくとも２２か月、少なくとも２３か月、または少なくとも２４か月持続される。

【００５０】

いくつかの態様において、投与後、対象において、慢性腎臓病疫学協力（ＣＫＤ－ＥＰＩ）方程式を使用して推算糸球体濾過量（ｅＧＦＲ）（ｍｌ／分／１．７３ｍ^{2}単位）が測定される。いくつかの態様において、年間ｅＧＦＲ低下率は、同等のファブリー病に罹患した未治療の対象よりも低い。

【００５１】

いくつかの態様において、投与後、対象において、一回拍出量（ＳＶ）／左室拡張末期容積（ＬＶＥＤＶ）として駆出率（ＥＦ）が測定される。いくつかの態様において、年間ＥＦ低下率は、同等のファブリー病に罹患した未治療の対象よりも低い。

【００５２】

いくつかの態様において、投与後、対象において、２次元（２Ｄ）ひずみ心エコー検査または心臓磁気共鳴画像法（心臓ＭＲＩまたはＣＭＲ）によって全体縦方向ひずみ（ＧＬＳ）が測定される。いくつかの態様において、心臓の筋肉の収縮性の年間短縮化進行は、同等のファブリー病に罹患した未治療の対象よりも低い。

【００５３】

いくつかの態様において、投与後、対象において、心臓磁気共鳴画像法（心臓ＭＲＩまたはＣＭＲ）上のネイティブＴ１マッピングによって心筋の緩和時間が測定される。いくつかの態様において、緩和時間の年間減少は、同等のファブリー病に罹患した未治療の対象よりも低い。

【００５４】

いくつかの態様において、投与後、対象において、心臓磁気共鳴画像法（心臓ＭＲＩまたはＣＭＲ）のＴ２マッピングによって心筋内の水分含有量の増加としての浮腫が測定される。いくつかの態様において、水分量の年間増加は、同等のファブリー病に罹患した未治療の対象よりも低い。

【００５５】

いくつかの態様において、投与後、対象において、左室質量（ＬＶＭ）／体表面積としての左室質量指数（ＬＶＭＩ）が測定される。いくつかの態様において、年間ＬＶＭＩ増加は、同等のファブリー病に罹患した未治療の対象よりも低い。

【００５６】

いくつかの態様において、投与後、対象における１つ以上の聴覚症状が改善される。いくつかの態様において、１つ以上の聴覚症状は、耳鳴り、めまい、または進行性の難聴である。

【００５７】

いくつかの態様において、対象の発汗レベルは、無汗症から低汗症または正常発汗へと好転した。

【００５８】

いくつかの態様において、対象は、投与前にファブリー病に対する酵素補充療法（ＥＲＴ）が施行されている（「前治療」）。いくつかの態様において、酵素補充療法は、組み換えα－ガラクトシダーゼＡ（ＧＬＡ）タンパク質またはＧＡＬを発現する遺伝子を含む。いくつかの態様において、前治療のための酵素補充療法は、ガラフォールド、ＡＶＲ－ＲＤ－０１、ＦＬＴ－１９０、ペグニガルシダーゼアルファ、４Ｄ－３１０、またはそれらの任意の組み合わせを投与することを含む。

【００５９】

いくつかの態様において、前治療のための酵素補充療法は、ＧＬＡの活性部位特異的シャペロン（ＡＳＳＣ）と組み合わせた組み換えα－ガラクトシダーゼＡ（ＧＬＡ）タンパク質を含む。いくつかの態様において、ＡＳＳＣは、１－デオキシガラクトノジリマイシンである。

【００６０】

いくつかの態様において、前治療のための酵素補充療法は、アガルシダーゼアルファ及び／またはベータ、あるいはアガルシダーゼアルファ及び／またはベータを発現する遺伝子を含む。いくつかの態様において、前治療のための酵素補充療法は、ファブラザイム、リプレガル、ＰＲＸ－１０２、またはそれらの任意の組み合わせを含む。

【００６１】

いくつかの態様において、前治療のための酵素補充療法は、遺伝子療法を含む。いくつかの態様において、遺伝子療法は、酵素をコードするベクターを含む。いくつかの態様において、遺伝子療法は、ＡＶＲ－ＲＤ－０１、ＦＬＴ－１９０、ペグニガルシダーゼアルファ、４Ｄ－３１０、またはそれらの任意の組み合わせを投与することを含む。

【００６２】

いくつかの態様において、ベクターは、ヒトＧＬＡタンパク質あるいはアガルシダーゼアルファ及び／またはベータをコードするｍＲＮＡを含む。いくつかの態様において、ベクターは、ウイルスベクターである。いくつかの態様において、ウイルスベクターは、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）ベクターまたはレンチウイルスベクターを含む。いくつかの態様において、遺伝子療法は、脂質ナノ粒子によって送達される。

【００６３】

いくつかの態様において、対象は、投与前にファブリー病に対する非酵素補充療法が施行されている（「前治療」）。いくつかの態様において、ファブリー病のための前治療療法は、ルセラスタット、ベングルスタット、アパベタロン、またはそれらの任意の組み合わせを含む。

【００６４】

いくつかの態様において、ファブリー病は、１型の古典型表現型、または２型の遅発型表現型である。

【図面の簡単な説明】

【００６５】

【図１】肝臓特異的調節エレメント（例えば、エンハンサー、プロモーター、イントロン）、少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質（ヒトアルファガラクトシダーゼＡ）をコードするα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）導入遺伝子、ウッドチャック肝炎ウイルス（ＷＨＶ）転写後調節要素（ＷＰＲＥｍｕｔ６）の変異型、ＩＴＲ配列と隣接するポリアデニル化（ポリＡ）シグナル配列を含む、ＡＡＶ－００１ヒトαガラクトシダーゼＡ（ｈＧＬＡ）ＡＡＶカセットの概略図を示している。ＳＰは、内因性ｈＧＬＡシグナルペプチドを指す。カセット全体のサイズ（３３２１ｂｐ）でのさまざまな要素のサイズが示される。

【図２】実施例１に記載されたファブリー病患者におけるＡＡＶ－００１（ＡＡＶ２／６ヒトα－Ｇａｌ　Ａ遺伝子療法）の安全性及び寛容性を評価するための第１／２相、グローバル、非盲検、単回投与、用量範囲設定多施設試験の概略図である。

【図３】患者１～９、コホート１～４、及び拡大コホートの患者１０についての、ベースライン患者特性（年齢（年）、ＥＲＴ状況、血漿α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性（ｎｍｏｌ／ｈ／ｍｌ）、血漿ｌｙｓｏ－Ｇｂ３（ｎｇ／ｍｌ）、主な疾患の兆候と症状、腎機能（ｅＧＦＲ）、既存のα－Ｇａｌ　Ａ抗体、及びα－Ｇａｌ　Ａアミノ酸変異）を示している。Ａｂ＝抗体、ＣＫＤ－ＥＰＩ＝慢性腎臓病疫学協力、ｅＧＦＲ＝推算糸球体濾過量、ＬＯＤ＝検出限界。＊ベースライン値は、ＡＡＶ－００１投与直前の時点とみなされた。†ｅＧＦＲはＣＫＤ－ＥＰＩ（ｍＬ／分／１．７３ｍ^2）として測定した。

【図４Ａ】ＡＡＶ－００１治療に関連する安全性及び寛容性のデータを示している。すべての安全性データは、カットオフ日（最後の測定ポイントの日付など）時点で最初の２つ

の用量コホート（０．５ｅ１３ｖｇ／ｋｇ及び１ｅ１３ｖｇ／ｋｇ）の４人の患者から評価した。
【図４Ｂ】ＡＡＶ－００１治療に関連する安全性及び寛容性のデータを示している。すべての安全性データは、カットオフ日時点で用量コホート１～３（０．５ｅ１３ｖｇ／ｋｇ、１．０ｅ１３ｖｇ／ｋｇ、及び３．０ｅ１３ｖｇ／ｋｇ）の５人の患者から評価した。追跡期間は４～５２週間（対象１及び２は、５２週間、対象３は、４０週間、対象４は、２５週間、対象５は、３週間）。ＭｅｄＤＲＡ＝医療規制用語集；ｖｇ／ｋｇ＝体重１キログラムあたりのベクターゲノム数。
【図４Ｃ】ＡＡＶ－００１治療に関連する安全性及び寛容性のデータを示している。すべての安全性データは、カットオフ日時点で用量コホート１～４（それぞれ０．５ｅ１３ｖｇ／ｋｇ、１．０ｅ１３ｖｇ／ｋｇ、３．０ｅ１３ｖｇ／ｋｇ、５．０ｅ１３ｖｇ／ｋｇ）の９人の患者から評価した。追跡期間は４週間～１５か月。ＭｅｄＤＲＡ＝医療規制用語集；ｖｇ／ｋｇ＝体重１キログラムあたりのベクターゲノム数。
【図５Ａ】実施例２に記載のように、患者１～４で測定された血漿α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性（ｎｍｏｌ／ｈ／ｍｌ）を示している。ＥＲＴ＝酵素補充療法、ｖｇ／ｋｇ＝体重１キログラムあたりのベクターゲノム。
【図５Ｂ】実施例２に記載のように、患者１～５で測定された血漿α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性（ｎｍｏｌ／ｈ／ｍｌ）を示している。ＥＲＴ＝酵素補充療法、ｖｇ／ｋｇ＝体重１キログラムあたりのベクターゲノム。
【図５Ｃ】実施例２に記載のように、患者１～８で測定された血漿α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性（ｎｍｏｌ／ｈ／ｍｌ）を示している。ＥＲＴ＝酵素補充療法、ｖｇ／ｋｇ＝体重１キログラムあたりのベクターゲノム。
【図６Ａ】実施例２に記載のように、患者１におけるＡＡＶ－００１投与後１２週目及び４８週目に測定された血漿α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性（ｎｍｏｌ／ｈ／ｍｌ）及びＬｙｓｏ－Ｇｂ３濃度（ｎｇ／ｍｌ）を示す。
【図６Ｂ】実施例２に記載のように、患者１におけるＡＡＶ－００１投与後５２週目に測定された血漿α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性（ｎｍｏｌ／ｈ／ｍｌ）及びＬｙｓｏ－Ｇｂ３濃度（ｎｇ／ｍｌ）を示す。
【図６Ｃ】実施例２に記載のように、患者１におけるＡＡＶ－００１投与後経時的に測定された血漿α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性（ｎｍｏｌ／ｈ／ｍｌ）及びＬｙｓｏ－Ｇｂ３濃度（ｎｇ／ｍｌ）を示す。
【図６Ｄ】実施例２に記載のように、患者２におけるＡＡＶ－００１投与後１２週目及び４８週目に測定された血漿α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性（ｎｍｏｌ／ｈ／ｍｌ）及びＬｙｓｏ－Ｇｂ３濃度（ｎｇ／ｍｌ）を示す。
【図６Ｅ】実施例２に記載のように、患者２におけるＡＡＶ－００１投与後５２週目に測定された血漿α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性（ｎｍｏｌ／ｈ／ｍｌ）及びＬｙｓｏ－Ｇｂ３濃度（ｎｇ／ｍｌ）を示す。
【図６Ｆ】実施例２に記載のように、患者２におけるＡＡＶ－００１投与後経時的に測定された血漿α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性（ｎｍｏｌ／ｈ／ｍｌ）及びＬｙｓｏ－Ｇｂ３濃度（ｎｇ／ｍｌ）を示す。
【図６Ｇ】実施例２に記載のように、患者３におけるＡＡＶ－００１投与後１２週目及び２８週目に測定された血漿α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性（ｎｍｏｌ／ｈ／ｍｌ）及びＬｙｓｏ－Ｇｂ３濃度（ｎｇ／ｍｌ）を示す。
【図６Ｈ】実施例２に記載のように、患者３におけるＡＡＶ－００１投与後４０週目に測定された血漿α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性（ｎｍｏｌ／ｈ／ｍｌ）及び３６週目に測定されたＬｙｓｏ－Ｇｂ３濃度（ｎｇ／ｍｌ）を示す。
【図６Ｉ】実施例２に記載のように、患者３におけるＡＡＶ－００１投与後経時的に測定された血漿α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性（ｎｍｏｌ／ｈ／ｍｌ）及びＬｙｓｏ－Ｇｂ３濃度（ｎｇ／ｍｌ）を示す。
【図６Ｊ】実施例２に記載のように、患者４におけるＡＡＶ－００１投与後１２週目に測

定された血漿α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性（ｎｍｏｌ／ｈ／ｍｌ）及びＬｙｓｏ－Ｇｂ３濃度（ｎｇ／ｍｌ）を示す。
【図６Ｋ】実施例２に記載のように、患者４におけるＡＡＶ－００１投与後経時的に測定された血漿α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性（ｎｍｏｌ／ｈ／ｍｌ）及びＬｙｓｏ－Ｇｂ３濃度（ｎｇ／ｍｌ）を示す。
【図６Ｌ】実施例２に記載のように、患者４におけるＡＡＶ－００１投与後２５週目に測定された血漿α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性（ｎｍｏｌ／ｈ／ｍｌ）及び２０週目に測定されたＬｙｓｏ－Ｇｂ３濃度（ｎｇ／ｍｌ）を示す。
【図６Ｍ】実施例２に記載のように、患者５におけるＡＡＶ－００１投与後経時的に測定された血漿α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性（ｎｍｏｌ／ｈ／ｍｌ）及びＬｙｓｏ－Ｇｂ３濃度（ｎｇ／ｍｌ）を示す。
【図６Ｎ】実施例２に記載のように、患者６におけるＡＡＶ－００１投与後経時的に測定された血漿α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性（ｎｍｏｌ／ｈ／ｍｌ）及びＬｙｓｏ－Ｇｂ３濃度（ｎｇ／ｍｌ）を示す。
【図６Ｏ】実施例２に記載のように、患者７におけるＡＡＶ－００１投与後経時的に測定された血漿α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性（ｎｍｏｌ／ｈ／ｍｌ）及びＬｙｓｏ－Ｇｂ３濃度（ｎｇ／ｍｌ）を示す。
【図６Ｐ】実施例２に記載のように、患者８におけるＡＡＶ－００１投与後経時的に測定された血漿α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性（ｎｍｏｌ／ｈ／ｍｌ）及びＬｙｓｏ－Ｇｂ３濃度（ｎｇ／ｍｌ）を示す。
【図６Ｑ】実施例２に記載のように、患者９におけるＡＡＶ－００１投与後経時的に測定されたＬｙｓｏ－Ｇｂ３濃度（ｎｇ／ｍｌ）を示す。
【発明を実施するための形態】
【００６６】
本開示は、体重１キログラムあたり約５×１０^{12}ベクターゲノム（ｖｇ／ｋｇ）～約５×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で、少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質をコードするα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）導入遺伝子を含む、α－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）発現カセットを含む発現ベクター（例えば、ＡＡＶ発現ベクター）を投与することにより、ファブリー病の１つ以上の症状を治療または改善すること、スフィンゴ糖脂質の量を減少させること、及び／または、α－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）タンパク質の活性を増加させることを、それを必要とする対象において行うための方法に関する。
【００６７】
Ｉ．定義
本開示が、より容易に理解されるために、いくつかの用語を最初に定義する。本出願で使用される場合、本書に明示的に別段の定めがある場合を除き、以下の各用語は以下に定める意味を持つ。さらなる定義は、本出願の全体を通して記載されている。
【００６８】
「ａ」または「ａｎ」という語は、その実体の１つ以上を指すことに注意されたく、例えば、「核酸配列」は、特に明記しない限り、１つ以上の核酸配列を表すものと理解される。したがって、「ａ」（または「ａｎ」）、「１つ以上」、及び「少なくとも１つ」という用語は、本明細書では同義に使用され得る。
【００６９】
さらに、本明細書で使用される「及び／または」は、指定された２つの機能またはコンポーネントのそれぞれが、他方の有無にかかわらず、具体的に開示されているものと解釈される。したがって、本明細書における「Ａ及び／またはＢ」などの語句で使用される「及び／または」という用語は、「Ａ及びＢ」、「ＡまたはＢ」、「Ａ」（単独）、及び「Ｂ」（単独）を含むことを意図している。同様に、「Ａ、Ｂ、及び／またはＣ」などの語句で使用される「及び／または」という用語は、次の各態様を包含することを意図している：Ａ、Ｂ、及びＣ；Ａ、Ｂ、またはＣ；ＡまたはＣ；ＡまたはＢ；ＢまたはＣ；Ａ及び

Ｃ；Ａ及びＢ；Ｂ及びＣ；Ａ（単独）；Ｂ（単独）；及びＣ（単独）。

【００７０】

本明細書において「含む」という語で態様が説明されている場合には、「からなる」及び／または「本質的に～からなる」という用語で説明されている類似の態様も提供されていることが理解される。

【００７１】

本明細書で使用される場合、「約」は、当業者が理解するとおりであり、その言葉が使用される文脈に応じてある程度変化するであろう。当業者にとって明白ではない用語の使用がある場合、その用語が使用される文脈を考慮して、「約」は、特定の値のプラスマイナス１０％までを意味するであろう。

【００７２】

数字または数字の列の前の「少なくとも」という用語は、「少なくとも」という用語に隣接する数字、及び文脈から明らかなように論理的に含まれる可能性がある後続の数字または整数すべてを含むものと理解される。例えば、核酸分子内のヌクレオチドの数は整数でなければならない。例えば、「２１ヌクレオチドの核酸分子の少なくとも１８ヌクレオチド」とは、１８、１９、２０、または２１ヌクレオチドが指定された特性を持つことを意味する。一連の数字または範囲の前に「少なくとも」がある場合、「少なくとも」は一連の数字または範囲の各数字を修飾できることが理解される。「少なくとも」もまた整数に限定されない（例えば、「少なくとも５％」には、有効数字の数を考慮せずに５．０％、５．１％、５．１８％が含まれる）。

【００７３】

本明細書で使用される場合、「以下」または「未満」は、フレーズに隣接する値、及び文脈から論理的にゼロより低い論理値または整数として理解される。一連の数字または範囲の前に「以下」がある場合、「以下」は一連の数字または範囲の各数字を修飾できることが理解される。

【００７４】

本明細書で使用される場合、「免疫応答」という用語は、外来因子または異常細胞（例えば、ファブリー病細胞）に対する生物体内の生物学的応答を指し、この応答は、そのような因子／細胞及びそれらによって引き起こされる疾患から生物を保護する。免疫応答は、免疫系の細胞（例えば、Ｔリンパ球（Ｔ細胞）、Ｂリンパ球（Ｂ細胞）、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、マクロファージ、好酸球、肥満細胞、樹状細胞、または好中球）及びこれらの細胞または肝臓によって生成される可溶性高分子（抗体、サイトカイン、及び補体を含む）の作用によって媒介され、侵入する病原体、病原体に感染した細胞もしくは組織、ファブリー病細胞、もしくはその他の異常な細胞、または自己免疫もしくは病理学的炎症の場合には正常なヒト細胞または組織を、選択的に標的とする、それに結合する、それを損傷する、それを破壊する、及び／またはそれを生物の体から排除する。いくつかの態様において、免疫反応には、例えば、エフェクターＴ細胞もしくはＴｈ細胞（例えば、ＣＤ４＋Ｔ細胞またはＣＤ８＋Ｔ細胞）などのＴ細胞の活性化もしくは阻害、または制御性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ細胞）の阻害が挙げられる。

【００７５】

本明細書で使用される「ベクター」または「送達ベクター」という用語は、核酸分子であって、それが連結した別の核酸を輸送することができる核酸分子を指すよう意図される。「ベクター」または「送達ベクター」という用語には、ｉｎ ｖｉｔｒｏ、ｅｘ ｖｉｖｏ、またはｉｎ ｖｉｖｏで細胞に核酸を導入するためのウイルス性及び非ウイルス性の両方のビヒクルが含まれる。例えば、プラスミド、改変された真核生物ウイルス、または改変された細菌ウイルスを含む多数のベクターが公知であり、当該技術分野で使用されている。１つの種類のベクターは「プラスミド」であり、これは、追加のＤＮＡセグメントがライゲートされ得る環状二本鎖ＤＮＡループを指す。別の種類のベクターは、ウイルスベクターであり、追加のＤＮＡセグメントがウイルスゲノムにライゲートされ得る。いくつかのベクターは、それらが導入される宿主細胞における自己複製が可能である（例え

ば、細菌起源の複製を有する細菌ベクター及びエピソーム性哺乳動物ベクター）。他のベクター（例えば、非エピソーム哺乳類ベクター）は、宿主細胞への導入時に宿主細胞のゲノムに組み込まれ得、それにより、宿主ゲノムとともに複製される。さらに、いくつかのベクターは、それらが操作的に連結された遺伝子の発現を司ることができる。そのようなベクターは、本明細書において、「組み換え発現ベクター」（または単に「発現ベクター」、他には「発現構築物」として知られる）と称される。一般に、組み換えＤＮＡ技法における利用される発現ベクターは、プラスミドの形態である場合が多い。本開示では、「プラスミド」及び「ベクター」は、プラスミドがベクターの最も一般的に使用される形態であるため、同義に使用され得る。ただし、同等の機能を果たす、ウイルスベクター（例えば、複製欠陥レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス（「ＡＡＶ」）、及びレンチウイルス）などの他の形式の発現ベクターも含まれる。

【００７６】

「発現ベクター」または「発現構築物」という用語は、核酸をコードする配列の一部または全部が転写可能な核酸を含むあらゆる種類の遺伝子構築物を意味する。

【００７７】

「ウイルスベクター」とは、例えば、タンパク質、ペプチド、及びオリゴヌクレオチド、またはそれらの複数など、目的の分子をコードするか、または含む１つ以上のポリヌクレオチド領域を含む配列を指す。ウイルスベクターは、遺伝物質を細胞に送達するために使用することができる。ウイルスベクターは、特定の用途に合わせて改変することができる。いくつかの態様において、本開示の送達ベクターは、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）ベクター、アデノウイルスベクター、レンチウイルスベクター、またはレトロウイルスベクターからなる群から選択されるウイルスベクターである。

【００７８】

本明細書で使用される「アデノ随伴ウイルスベクター」または「ＡＡＶベクター」という用語は、アデノ随伴ウイルスの成分を含むか、またはそれに由来し、哺乳動物細胞、好ましくはヒト細胞に感染するのに好適ないずれかのベクターを指す。ＡＡＶベクターという用語は、通常、ペイロードを含むＡＡＶ型ウイルス粒子またはビリオンを指す。ＡＡＶベクターは、血清型の組み合わせ（つまり、「擬型」ＡＡＶ）を含むさまざまな血清型から、またはさまざまなゲノム（例えば、一本鎖または自己相補的）に由来することができる。

【００７９】

本明細書で使用される用語「ＡＡＶ２／６」、「ｒＡＡＶ２／６」、または「擬型ＡＡＶ２／６」ベクターは、ＡＡＶ２由来のＩＴＲと両端で隣接するα－Ｇａｌ　Ａ発現カセットを含む本開示のＡＡＶ発現ベクター（例えば、ＡＡＶ－００１ｒＡＡＶベクター）を指し、α－Ｇａｌ　Ａ発現カセットはアデノ随伴ウイルス６型（ＡＡＶ６）由来のカプシドでパッケージ化されている。

【００８０】

さらに、ＡＡＶベクターは、複製欠陥及び／または標的化であり得る。本明細書で使用される場合、用語「アデノ随伴ウイルス」（ＡＡＶ）には、ＡＡＶ１型、ＡＡＶ２型、ＡＡＶ３型（３Ａ型及び３Ｂ型を含む）、ＡＡＶ４型、ＡＡＶ５型、ＡＡＶ６型、ＡＡＶ７型、ＡＡＶ８型、ＡＡＶ９型、ＡＡＶ１０型、ＡＡＶ１１型、ＡＡＶ１２型、ＡＡＶ１３型、ＡＡＶｒｈ８、ＡＡＶｒｈ１０、ＡＡＶｒｈ．７４、ヘビＡＡＶ、トリＡＡＶ、ウシＡＡＶ、イヌＡＡＶ、ウマＡＡＶ、ヒツジＡＡＶ、ヤギＡＡＶ、エビＡＡＶ、Ｇａｏ　ｅｔ　ａｌ．（Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．７８：６３８１（２００４））及びＭｏｒｉｓ　ｅｔ　ａｌ．（Ｖｉｒｏｌ．３３：３７５（２００４））で開示されるＡＡＶ血清型及び系統群、及び現在知られている、または今後発見されるその他のＡＡＶが挙げられるが、これらに限定されない。例えば、ＦＩＥＬＤＳ　ｅｔ　ａｌ．ＶＩＲＯＬＯＧＹ，ｖｏｌｕｍｅ　２，ｃｈａｐｔｅｒ　６９（４ｔｈ　ｅｄ．，Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ－Ｒａｖｅｎ　Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ）を参照のこと。いくつかの態様において、「ＡＡＶベクター」には、既知のＡＡＶベクターの誘導体が含まれる。いくつかの態様において、「ＡＡＶベクター

」には、改変ＡＡＶベクターまたは人工ＡＡＶベクターが含まれる。いくつかの態様において、「ＡＡＶベクター」には、組み換えアデノ随伴ウイルス（ｒＡＡＶ）が含まれる。いくつかの態様において、ＡＡＶ発現ベクター血清型は、ＡＡＶ２／６である。

【００８１】

いくつかの態様において、ＡＡＶベクターは、野生型ＡＡＶ血清型配列に対して改変または変異される。

【００８２】

好適なベクターへのポリヌクレオチドの挿入は、相補的な接着末端を有する選択されたベクターに適切なポリヌクレオチド断片を連結することによって達成することができる。ベクターは、ベクターを組み込んだ細胞の選択または識別を可能にする選択マーカーまたはレポーターをコードするように設計することができる。選択マーカーまたはレポーターの発現により、ベクターに含まれる他のコーディング領域を組み込み、発現する宿主細胞の識別及び／または選択が可能になる。当該技術分野で知られ、使用されている選択マーカー遺伝子の例としては、アンピシリン、ストレプトマイシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、ハイグロマイシン、ビアラホス除草剤、スルホンアミドなどに対する耐性を付与する遺伝子、及び表現型マーカーとして使用される遺伝子、すなわち、アントシアニン調節遺伝子、イソペンタニルトランスフェラーゼ遺伝子などが挙げられる。当技術分野で知られ、使用されているレポーターの例としては、ルシフェラーゼ（Ｌｕｃ）、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ（ＣＡＴ）、β－ガラクトシダーゼ（ＬａｃＺ）、β－グルクロニダーゼ（Ｇｕｓ）などが挙げられる。選択マーカーもレポーターとみなすことができる。いくつかの態様において、送達ベクターは、ウイルスベクター（例えば、ＡＡＶベクター）、プラスミド、脂質、タンパク質粒子、細菌ベクター、リソソーム、ウイルス様粒子、ポリマー粒子、エキソソーム、またはボールト粒子からなる群から選択される。

【００８３】

本開示のいくつかの態様は、生物学的ベクターを対象としており、これには、ウイルス、特に弱毒化ウイルス及び／または複製欠損ウイルスが含まれ得る。

【００８４】

本明細書で使用される場合、「プロモーター」という用語は、遺伝子の転写を開始するために必要な、細胞の機構によって認識されるＤＮＡ配列、または導入された合成機構を指す。「プロモーター」という用語は、細胞型特異的、組織特異的に制御可能、または外部シグナルまたは因子によって誘導可能なプロモーター依存性遺伝子発現に十分な核酸要素も包含することを意味し、このような要素は、ネイティブ遺伝子の５’領域または３’領域に配置され得る。いくつかの態様において、プロモーターは、恒常的に活性なプロモーター、細胞型特異的プロモーター、または誘導性プロモーターである。いくつかの態様において、プロモーターは、アルファ１－アンチトリプシン（ｈＡＡＴ）プロモーターである。

【００８５】

いくつかの態様において、ベクター媒介導入遺伝子発現の特異性を高めるために、マイクロＲＮＡ標的配列が含まれる。例えば、Ａｎｊａ Ｇｅｉｓｌｅｒ ａｎｄ Ｈｅｎｒｙ Ｆｅｃｈｎｅｒ，Ｗｏｒｌｄ Ｊ Ｅｘｐ Ｍｅｄ．，２０；６（２）：３７－５４（２０１６）を参照のこと。

【００８６】

本明細書で使用される場合、「エンハンサー」という用語は、隣接する遺伝子の転写を刺激または阻害するシス作用要素である。転写を阻害するエンハンサーは「サイレンサー」とも称される。エンハンサーは、コード配列から最大数キロベースペア（ｋｂ）の距離にわたって、また転写領域の下流の位置から、どちらの方向でも機能することができる（例えば、コード配列に関連付けることができる）。いくつかの態様において、エンハンサーは、アポリポタンパク質Ｅ（ＡＰＯＥ）エンハンサーである。いくつかの態様において、ＡＰＯＥエンハンサーは、ｈＡＡＴプロモーターに操作可能に連結されている。

【００８７】
本明細書で使用される場合、「調節可能なプロモーター」という用語は、その活性がシスまたはトランス作用因子（例えば、外部シグナルまたはエージェントなどの誘導性プロモーター）によって影響を受ける任意のプロモーターである。
【００８８】
本明細書で使用される場合、「構成的プロモーター」という用語は、ほとんどの場合、多くのまたはすべての組織／細胞型でＲＮＡ生成を指示する任意のプロモーターであり、例えば、哺乳動物細胞でクローン化されたＤＮＡインサートの構成的発現をプロモートするヒトＣＭＶ前初期エンハンサー／プロモーター領域である。
【００８９】
「転写調節タンパク質」、「転写調節因子」、及び「転写因子」という用語は、本明細書では同義に使用され、ＤＮＡ応答要素に結合し、それによって関連する遺伝子の発現を転写的に調節する核タンパク質を指す。転写調節タンパク質は、通常、ＤＮＡ応答要素に直接結合するが、場合によっては、ＤＮＡ応答要素に結合する、またはＤＮＡ応答要素に結合される別のタンパク質に結合することによって、ＤＮＡへの結合が間接的になることもある。
【００９０】
本明細書で使用される場合、「終結シグナル配列」という用語は、例えば、ポリアデニル化（ポリＡまたはｐＡ）シグナル配列など、ＲＮＡポリメラーゼに転写を終結させる任意の遺伝要素であり得る。ポリアデニル化シグナル配列は、ＲＮＡ転写物のエンドヌクレアーゼ切断に必要な認識領域であり、その後にポリアデニル化コンセンサス配列ＡＡＴＡＡＡが続く。ポリアデニル化シグナル配列は、「ポリＡサイト」、つまり、転写後ポリアデニル化によってアデニン残基が追加されるＲＮＡ転写物上のサイトを提供する。
【００９１】
「操作的に連結された」、「操作的に挿入された」、「操作的に配置された」、「制御下にある」または「転写制御下にある」という用語は、プロモーターが核酸に対して正しい位置と方向にあり、ＲＮＡポリメラーゼの開始と遺伝子の発現を制御することを意味する。いくつかの態様において、「操作可能に連結された」という用語は、適切な分子（例えば、転写活性化タンパク質）が調節配列に結合したときに遺伝子発現を可能にするような方法でＤＮＡ配列と調節配列が連結されていることを意味する。いくつかの態様において、「操作可能に挿入された」という用語は、細胞に導入された目的のＤＮＡが、導入されたＤＮＡの転写及び翻訳を指示する（つまり、目的のＤＮＡによってコードされるポリペプチドなどの生成を促進する）ＤＮＡ配列に隣接して配置されていることを意味する。
【００９２】
「コード配列」または特定の分子（例えば、少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質）を「コードする」配列は、プロモーターなどの適切な調節配列に操作可能に連結されている場合、ｉｎ　ｖｉｔｒｏまたはｉｎ　ｖｉｖｏでポリペプチドに転写される（ＤＮＡの場合）か、または翻訳される（ｍＲＮＡの場合）核酸である。コード配列の境界は、５’（アミノ）末端の開始コドン及び３’（カルボキシ）末端の翻訳終止コドンによって決定される。コード配列には、原核生物または真核生物のｍＲＮＡ由来のｃＤＮＡ、原核生物または真核生物のＤＮＡ由来のゲノムＤＮＡ配列、及び合成ＤＮＡ配列が挙げられるが、これらに限定されない。転写終結配列は通常、コード配列の３’に位置する。
【００９３】
本明細書で使用される「由来する」という用語は、特定の分子または生物から単離された、または特定の分子または生物を使用して作成された成分、または特定の分子または生物からの情報（例：アミノ酸または核酸配列）を指す。例えば、第２の核酸配列（例えば、別のＡＡＶベクター）由来の酸配列（例えば、ＡＡＶベクター）には、第２の核酸配列のヌクレオチド配列と同一または実質的に類似するヌクレオチド配列が含まれ得る。
【００９４】
本明細書に開示されるポリヌクレオチドの場合、由来種は、例えば、天然突然変異誘発

、人工的誘導突然変異誘発、または人工的ランダム突然変異誘発によって得ることができる。ポリヌクレオチドを誘導するために使用される突然変異誘発は、意図的に方向付けられたもの、意図的にランダムなもの、またはそれらの混合であり得る。第１のポリヌクレオチドに由来する異なるポリヌクレオチドを生成されるためのポリヌクレオチドの変異誘発は、ランダムなイベント（例えば、ポリメラーゼの不一致によって引き起こされる）であり得、誘発されたポリヌクレオチドの識別は適切なスクリーニング方法によって行うことができる。

【００９５】

本明細書で使用される場合、「変異」という用語は、遺伝子の構造が変化し、その結果、次の世代に伝達される可能性のある変種（「変異体」とも呼ばれる）が生じることを指す。遺伝子の変異は、ＤＮＡ内の単一の塩基の置換、または遺伝子や染色体のより大きな部分の欠失、挿入、または再配置によって引き起こされ得る。

【００９６】

「核酸」、「ポリヌクレオチド」、及び「オリゴヌクレオチド」という用語は、同義に使用され、線状または環状構造であり、かつ一本鎖または二本鎖形態のいずれかである、デオキシリボヌクレオチドまたはリボヌクレオチドポリマーを指す。本開示の目的のために、これらの用語は、ポリマーの長さに関して限定的であると解釈されるべきではない。これらの用語は、天然ヌクレオチドの既知の類似体、並びに塩基、糖、及び／またはリン酸塩部分（例えば、ホスホロチオエート骨格）で修飾されるヌクレオチドを包含し得る。概して、特定のヌクレオチドの類似体は、同一の塩基対合特異性を有し、すなわち、Ａの類似体は、Ｔと塩基対合する。いくつかの態様において、核酸分子は相補的ＤＮＡ（ｃＤＮＡ）であり得る。ポリヌクレオチドは、組み換え、酵素、または合成、例えば、固相化学合成とそれに続く精製によって製造することができる。ポリヌクレオチドまたは核酸の配列について言及する場合、共有結合したヌクレオチドまたはヌクレオシドの核酸塩基部分またはその修飾の配列または順序について言及している。

【００９７】

本明細書で使用される「ｃＤＮＡ」という用語は、ＤＮＡまたはＲＮＡのいずれかをテンプレートとして使用できるＤＮＡポリメラーゼである逆転写酵素によって生成されるメッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）分子のＤＮＡコピーである。

【００９８】

本明細書で使用される「ｍＲＮＡ」という用語は、１つ以上のポリペプチド鎖のアミノ酸配列をコードする一本鎖ＲＮＡを指す。

【００９９】

核酸は、細胞全体、細胞溶解物、または部分的に精製された形態もしくは実質的に純粋な形態で存在することができる。核酸は、アルカリ／ＳＤＳ処理、ＣｓＣｌバンド法、カラムクロマトグラフィー、アガロースゲル電気泳動法、その他当該分野で周知の標準技術によって、他の細胞成分または他の汚染物質、例えば、他の細胞核酸（例えば、染色体の他の部分）またはタンパク質から精製された場合、「単離」または「実質的に純粋」となる。Ｆ．Ａｕｓｕｂｅｌ，ｅｔ ａｌ．，ｅｄ．Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｇｒｅｅｎｅ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ ａｎｄ Ｗｉｌｅｙ Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８７）を参照のこと。

【０１００】

核酸、例えば、ｃＤＮＡは、遺伝子配列を提供するための標準的な技術に従って変異させることができる。コード配列の場合、これらの変異は、必要に応じてアミノ酸配列に影響を与えることができる。特に、本明細書に記載の天然のＶ、Ｄ、Ｊ、定常、スイッチ、及びその他の本明細書に記載の配列と実質的に相同であるか、またはそれら由来のＤＮＡ配列が企図される（「由来」は、配列が別の配列と同一であるか、または別の配列から修飾されていることを示す）。

【０１０１】

本明細書で使用される「アンチセンス」という用語は、遺伝子、一次転写産物、または処理されたｍＲＮＡの全部または一部と十分に相補的であり、内因性遺伝子の発現を妨げる核酸を指す。「相補的」ポリヌクレオチドは、標準的なワトソン－クリック相補性規則に従って塩基対を形成できるポリヌクレオチドである。具体的には、プリンはピリミジンと塩基対を形成し、シトシンと対形成するグアニン（Ｇ：Ｃ）、及び、ＤＮＡの場合はチミンと対形成するアデニン（Ａ：Ｔ）、またはＲＮＡの場合はウラシルと対形成するアデニン（Ａ：Ｕ）の組み合わせを形成する。２つのポリヌクレオチドは、それぞれが他方に実質的に相補的な領域を少なくとも１つ持っている限り、完全に相補的でなくても、互いにハイブリダイズできることが理解される。

【０１０２】

「アンチセンス鎖」及び「ガイド鎖」という用語は、標的配列、例えば、ｍＲＮＡと実質的に相補的な領域を含むｄｓＲＮＡ、例えば、ｓｈＲＮＡの鎖を指す。アンチセンス鎖は、標的特異的サイレンシングを誘導するために所望の標的ｍＲＮＡ配列と十分に相補的な配列、例えば、ＲＮＡｉ機構またはプロセスによる所望の標的ｍＲＮＡの破壊を誘発するのに十分な相補性を有する。

【０１０３】

本明細書で使用される「センス鎖」及び「パッセンジャー鎖」という用語は、用語が本明細書で定義されているアンチセンス鎖の領域と実質的に相補的な領域を含むｄｓＲＮＡ、例えばｓｈＲＮＡの鎖を指す。例えば、ｄｓＲＮＡのアンチセンス鎖及びセンス鎖、例えば、ｓｈＲＮＡは、ハイブリダイズして二重鎖構造を形成する。

【０１０４】

本明細書で使用される「遺伝子」という用語は、遺伝子産物をコードするＤＮＡ領域、並びに遺伝子産物の産生を調節するすべてのＤＮＡ領域（そのような調節配列がコード配列及び／または転写配列に隣接するか否かにかかわらず）を含む。したがって、遺伝子は、プロモーター配列、ターミネーター、翻訳調節配列（リボソーム結合部位及び内部リボソーム進入部位等）、エンハンサー、サイレンサー、インシュレーター、境界要素、複製起点、マトリックス付着部位、及び遺伝子座制御領域を含むが、必ずしもこれらに限定されない。

【０１０５】

本明細書で使用される「導入遺伝子」という用語は、ある生物に由来するＤＮＡのセグメントが別の生物のゲノムに導入されたものを指す。導入遺伝子は、さまざまな方法で細胞に送達されてもよく、それにより導入遺伝子細胞自身のゲノムに組み込まれてそこで維持される。近年、部位特異的ヌクレアーゼでの切断を用いて選択されたゲノム遺伝子座へ標的挿入する導入遺伝子組込みの戦略が開発されている（例えば、米国特許第７，８８８，１２１号を参照のこと）。ジンクフィンガーヌクレアーゼ（ＺＦＮ）、転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ（ＴＡＬＥＮ）、またはＲＮＡ誘導ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓ系（設計されたガイドＲＮＡを使用）などのヌクレアーゼ系は、標的遺伝子に特異的であり、相同組み換え修復（ＨＤＲ）または非相同末端結合（ＮＨＥＪ）駆動プロセス中の末端捕捉のいずれかによって導入遺伝子構築物が挿入されるように利用することができる。例えば、米国特許第９，３９４，５４５号、同第９，２５５，２５０号、同第９，２００，２６６号、同第９，０４５，７６３号、同第９，００５，９７３号、同第９，１５０，８４７号、同第８，９５６，８２８号、同第８，９４５，８６８号、同第８，７０３，４８９号、同第８，５８６，５２６号、同第６，５３４，２６１号、同第６，５９９，６９２号、同第６，５０３，７１７号、同第６，６８９，５５８号、同第７，０６７，３１７号、同第７，２６２，０５４号、同第７，８８８，１２１号、同第７，９７２，８５４号、同第７，９１４，７９６号、同第７，９５１，９２５号、同第８，１１０，３７９号、同第８，４０９，８６１号、米国特許公開第２００３０２３２４１０号、同第２００５０２０８４８９号、同第２００５００２６１５７号、同第２００５００６４４７４号、同第２００６００６３２３１号、同第２００８０１５９９９６号、同第２０１０００２１８２６４号、同第２０１２００１７２９０号、同第２０１１０２６５１９８号、同第２０１３０

１３７１０４号、同第２０１３０１２２５９１号、同第２０１３０１７７９８３号、同第２０１３０１９６３７３号、同第２０１４０１２０６２２号、同第２０１５００５６７０５号、同第２０１５０３３５７０８号、同第２０１６００３０４７７号、及び同第２０１６００２４４７４を参照されたく、その開示内容は全体として参照により組み込まれる。

【０１０６】

導入遺伝子は、さまざまな方法で細胞に導入され、維持され得る。「ｃＤＮＡ」アプローチに従って、導入遺伝子は、細胞のクロマチンへの統合ではなく、染色体外で維持されるように細胞に導入される。導入遺伝子は、環状ベクター（例えば、プラスミド、またはＡＡＶもしくはレンチウイルスなどの非組込み型ウイルスベクター）上で維持することができ、ベクターには、プロモーター、エンハンサー、ポリＡシグナル配列、イントロン、及びスプライシングシグナルなどの転写調節配列を含めることができる（米国特許出願公開第２０１７０１１９９０６号）。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質をコードするα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）導入遺伝子を含む。いくつかの態様において、本開示の導入遺伝子は、野生型α－Ｇａｌ　Ａ配列またはコドン最適化α－Ｇａｌ　Ａ配列を含む。いくつかの態様において、本開示のα－Ｇａｌ　Ａ導入遺伝子は、配列番号５に記載のヌクレオチド配列を含む。

【０１０７】

本明細書で使用される「遺伝子発現」という用語は、遺伝子に含まれる情報の遺伝子産物への変換を指す。遺伝子産物は、遺伝子の直接転写産物（例えば、ｍＲＮＡ、ｔＲＮＡ、ｒＲＮＡ、アンチセンスＲＮＡ、リボザイム、構造ＲＮＡ、もしくは任意の他の種類のＲＮＡ）、またはｍＲＮＡの翻訳によって産生されるタンパク質であり得る。遺伝子産物は、キャッピング、ポリアデニル化、メチル化、及び編集等のプロセスによって修飾されるＲＮＡ、並びに例えば、メチル化、アセチル化、リン酸化、ユビキチン化、ＡＤＰリボシル化、ミリスチリル化、及びグリコシル化によって修飾されるタンパク質も含む。

【０１０８】

本明細書で使用される「ＧＬＡ遺伝子」という用語は、本明細書で説明するように、少なくとも１つのα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）タンパク質をコードする。

【０１０９】

本明細書で使用される、遺伝子発現の「調節」という用語は、遺伝子の活性の変化を指す。発現の調節には、遺伝子活性及び遺伝子抑制が挙げられるが、これらに限定されない。ゲノム編集（例えば、切断、変更、不活性化、ランダム変異）は、発現を調節するために使用され得る。遺伝子不活性化とは、例えば、ＺＦＰ、ＴＡＬＥ、またはＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓ系を含まない細胞と比較して遺伝子発現が減少することを指す。したがって、遺伝子の不活性化は、部分的または完全なものであり得る。

【０１１０】

「目的とする領域」という用語は、例えば、遺伝子、または遺伝子内の非コード配列もしくは遺伝子に隣接した非コード配列等の細胞クロマチンの任意の領域であり、その中で外因性分子に結合することが望ましい。結合は、標的ＤＮＡ切断及び／または標的組み換えを目的として行われ得る。目的とする領域は、例えば、染色体、エピソーム、小器官ゲノム（例えば、ミトコンドリア、葉緑体）、または感染ウイルスゲノムに存在し得る。目的とする領域は、遺伝子のコード領域内、転写された非コード領域（例えば、リーダー配列、トレーラー配列、もしくはイントロン等）内、またはコード領域の上流もしくは下流のいずれかの非転写領域内に存在し得る。目的とする領域は、単一のヌクレオチド対と同程度に小さいか、または最大２，０００ヌクレオチド対長であり得るか、または任意の整数値のヌクレオチド対長であり得る。

【０１１１】

本明細書で使用される「真核細胞」という用語には、真菌細胞（酵母細胞など）、植物細胞、動物細胞、哺乳動物細胞、及びヒト細胞（例えば、肝細胞、筋細胞、赤血球など）（幹細胞（多能性及び多分化能）を含む）が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１１２】
本明細書で使用される「分泌組織」という用語は、個々の細胞からの産物を、通常は上皮に由来するいくつかの種類の管腔に分泌する、動物における組織である。消化管に限局される分泌組織の例として、腸管、膵臓、及び胆嚢を裏打ちする細胞が挙げられる。他の分泌組織には、肝臓、目及び粘膜に関連する組織、例えば、唾液腺、乳腺、前立腺、下垂体、及び他の内分泌系のメンバーが含まれる。さらに、分泌組織は、分泌することができる組織型の個々の細胞を含む。
【０１１３】
本明細書で使用される場合、「ポリペプチド」という用語は、単数の「ポリペプチド」及び複数の「ポリペプチド」を包含することを意図しており、アミノ酸の任意の鎖または２つ以上のアミノ酸の鎖を含む。したがって、本明細書で使用される場合、「ペプチド」、「ペプチドサブユニット」、「タンパク質」、「アミノ酸鎖」、「アミノ酸配列」、または２つ以上のアミノ酸の鎖を指すために使用されるその他の用語は、それぞれがより具体的な意味を持つ可能性がある場合でも、「ポリペプチド」の定義に含まれる。「ポリペプチド」という用語は、これらの用語のうちいずれかの代わりに、またはこれらの用語のうちいずれかと同義に使用され得る。この用語にはさらに、翻訳後または合成後の修飾、例えば、パルミトイル基の共役、グリコシル化、アセチル化、リン酸化、アミド化、既知の保護基／ブロッキング基による誘導体化、タンパク質分解による切断、または非天然アミノ酸による修飾を受けたポリペプチドも含まれる。本明細書で使用される「ペプチド」という用語は、全長ペプチド及びその断片、変種または誘導体を包含する。本明細書に開示される「ペプチド」は、半減期を延長するために、例えば、Ｆｃドメインまたはアルブミンドメインなどの追加の成分を含む融合ポリペプチドの一部であり得る。本明細書に記載のペプチドは、さまざまな方法で誘導体化することもできる。本明細書に記載のペプチドは、例えば、パルミトイル基の結合を含む修飾を含み得る。
【０１１４】
本明細書で使用される場合、「その機能的断片」という用語は、完全なタンパク質に関連する１つ以上の機能（例えば、免疫応答の刺激、調節、制御、または修正）を依然として実行可能な、α－ガラクトシダーゼＡタンパク質などのタンパク質の断片または部分を指す。
【０１１５】
「α－ガラクトシダーゼＡ」、「α－Ｇａｌ　Ａ」、及び「ＧＡＬ」という用語は同義に使用され、ガラクトースオリゴ糖、ガラクトマンナン、及びガラクトリピドを含む、α－Ｄ－ガラクトシドの末端の非還元α－Ｄ－ガラクトース残基の加水分解を含む、酵素活性を持つタンパク質を指す。いくつかの態様において、α－Ｇａｌ　Ａは、ＩＵＢＭＢ酵素命名法ＥＣ３．２．１．２２に記載されている酵素を含む（例えば、Ｓｕｚｕｋｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２４５：７８１－７８６（１９７０）；Ｗｉｅｄｅｒｓｃｈａｉｎ，Ｇ．ａｎｄ　Ｂｅｙｅｒ，Ｅ．Ｄｏｋｌ．　Ａｋａｄ．　Ｎａｕｋ　Ｓ．Ｓ．Ｓ．Ｒ．２３１：４８６－４８８（１９７６）に記載されている）。いくつかの態様において、α－Ｇａｌ　Ａは、ヒトＧＬＡ遺伝子、例えば、ＧｅｎＢａｎｋ　Ａｃｃｅｓｓｉｏｎ　Ｎｏ．ＮＭ＿０００１６９で定義されるヒトα－Ｇａｌ　Ａ遺伝子を含む核酸によってコードされるタンパク質を含む。いくつかの態様において、α－Ｇａｌ　Ａは、ＧｅｎＢａｎｋ　Ａｃｃｅｓｓｉｏｎ　Ｎｏ．ＮＰ＿０００１６０によって定義されるアミノ酸配列を含むタンパク質を含む。
【０１１６】
いくつかの態様において、ＧＡＬは、α－Ｇａｌ　Ａを内因的に発現する細胞から得ることができ、またはα－Ｇａｌ　Ａは、組み換えヒトα－Ｇａｌ　Ａ（ｒｈα－Ｇａｌ　Ａ）であり得る。いくつかの態様において、ｒｈα－Ｇａｌ　Ａは全長の野生型α－Ｇａｌ　Ａである。いくつかの態様において、ｒｈα－Ｇａｌ　Ａは、野生型α－Ｇａｌ　Ａに存在するアミノ酸残基のサブセットを含み、このサブセットには、基質結合及び／または基質還元のための活性部位を形成する野生型α－Ｇａｌ　Ａのアミノ酸残基が含まれる

。いくつかの態様において、ｒｈα－Ｇａｌ　Ａは、基質結合及び／または基質還元のための野生型α－Ｇａｌ　Ａ活性部位、並びに野生型α－Ｇａｌ　Ａに存在するか存在しない可能性のある他のアミノ酸残基を含む融合タンパク質である。

【０１１７】

α－Ｇａｌ　Ａは、市販の供給元から入手することも、当業者に周知の合成技術によって得ることもできる。野生型酵素は、組み換え細胞発現系（例えば、ＣＨＯ細胞などの哺乳動物細胞、または昆虫細胞、例えば、米国特許第５，５８０，７５７号、同第６，３９５，８８４号、同第６，４５８，５７４号、同第６，４６１，６０９号、同第６，２１０，６６６号、同第６，０８３，７２５号を参照のこと）、ヒト胎盤、または動物乳から精製することができる。

【０１１８】

医薬用途に好適なα－Ｇａｌ　Ａを得るための他の合成技術は、例えば、米国特許第７，５６０，４２４号、同第７，３９６，８１１号、同第４２３，１３５号、同第６，５３４，３００号、及び同第６，５３７，７８５号；米国公開出願第２００９／０２０３５７５号、同第２００９／００２９４６７号、同第２００８／０２９９６４０号、同第２００８／０２４１１１８号、同第２００６／０１２１０１８号、同第２００５／０２４４４００号、同第２００７／０２８０９２５号、及び同第２００４／００２９７７９号、並びに、国際公開出願第２００５／０７７０９３号に記載されている。

【０１１９】

いくつかの態様において、α－Ｇａｌ　Ａは、ヒト細胞株で遺伝子工学技術によって生成されたアガルシダーゼアルファである。アガルシダーゼアルファは、Ｓｈｉｒｅ　Ｐｌｃ（Ｄｕｂｌｉｎ，Ｉｒｅｌａｎｄ）からＲｅｐｌａｇａｌ（登録商標）として入手可能である。いくつかの態様において、α－Ｇａｌ　Ａは、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞株で組み換えＤＮＡ技術によって生成されたアガルシダーゼベータである。アガルシダーゼベータは、Ｓａｎｏｆｉ　Ｇｅｎｚｙｍｅ（Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ，Ｍａｓｓ．）からＦａｂｒａｚｙｍｅ（商標登録）として入手可能である。いくつかの態様において、α－Ｇａｌ　Ａは、ヒトα－Ｇａｌ　Ａ遺伝子をコードする発現ベクターで形質転換されたＣＨＯ細胞で生成された組み換えヒトα－Ｇａｌ　Ａである（ＪＣＲ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ　Ｃｏ．Ｌｔｄ，（Ｊａｐａｎ））、ＪＲ－０５１として識別される。

【０１２０】

本明細書に記載のヒトα－Ｇａｌ　Ａタンパク質と同一のアミノ酸配列を含むタンパク質に加えて、本開示は、それと「実質的に類似する」α－Ｇａｌ　Ａタンパク質も包含する。ここで参照タンパク質と「実質的に類似」であると本明細書において説明されるタンパク質には、天然タンパク質の構造的及び機能的特徴の一部を保持しながらも、１つ以上のアミノ酸位置で天然アミノ酸配列と異なる（つまり、アミノ酸置換による）タンパク質が含まれる。

【０１２１】

天然の配列から変更されたタンパク質は、天然のタンパク質内のアミノ酸残基を置換し、所望の活性を有するタンパク質を選択することによって調製することができる。例えば、α－Ｇａｌ　Ａタンパク質のアミノ酸残基を、他の残基で体系的に置換し、置換されたタンパク質を標準的なアッセイで試験して、ガラクトースオリゴ糖、ガラクトマンナン、及びガラクトリピドを含むα－Ｄ－ガラクトシド中の末端の非還元性α－Ｄ－ガラクトース残基を加水分解するタンパク質の能力、及び／またはファブリー病を治療または予防する能力に対するそのような置換の影響を評価することができる。

【０１２２】

いくつかの態様において、機能活性を保持するために、保存的アミノ酸置換が行われる。本明細書で使用される場合、「保存的アミノ酸置換」とは、アミノ酸残基が、類似の側鎖を有するアミノ酸残基による置換を指す。類似の側鎖を有するアミノ酸残基ファミリーは、当該技術分野において定義されている。これらのファミリーとしては、塩基性側鎖（

例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、トリプトファン）、非極性側鎖（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン）、ベータ分岐側鎖（例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン）及び芳香族側鎖（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）を有するアミノ酸が挙げられる。いくつかの態様において、α－Ｇａｌ　Ａタンパク質内の予測される非必須アミノ酸残基は、同じ側鎖ファミリーからの別のアミノ酸残基に置き換えられる。抗原結合を排除しないヌクレオチド及びアミノ酸の保存的置換を同定する方法は、当該技術分野で周知である（例えば、Ｂｒｕｍｍｅｌｌ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍ．３２：１１８０－１１８７（１９９３）；Ｋｏｂａｙａｓｈｉ　ｅｔ　ａｌ．Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇ．１２（１０）：８７９－８８４（１９９９）；及びＢｕｒｋｓ　ｅｔ　ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ９４：４１２－４１７（１９９７）を参照のこと）。

【０１２３】

いくつかの態様において、本開示のα－Ｇａｌ　Ａタンパク質は、本明細書に記載されるかまたは当該技術分野で周知のα－Ｇａｌ　Ａタンパク質のアミノ酸配列と約７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一である。

【０１２４】

２つの配列間の同一性パーセントは、ギャップの数、及び２つの配列の最適な整列のために導入する必要がある各ギャップの長さを考慮した配列によって共有される同一の位置の数の関数である（すなわち、相同％＝同一の位置の数／位置の総数×１００）。配列の比較及び２つの配列間の同一性パーセントの決定は、以下の非限定的な例に記載されるように、数学的アルゴリズムを使用して達成され得る。

【０１２５】

２つのヌクレオチド配列間の同一性パーセントは、ＧＣＧソフトウェアパッケージ（ｗｏｒｌｄｗｉｄｅｗｅｂ．ｇｃｇ．ｃｏｍで入手可能）のＧＡＰプログラムを使用して、ＮＷＳｇａｐｄｎａ．ＣＭＰマトリックス及びギャップ重み４０、５０、６０、７０、または８０、長さ重み１、２、３、４、５、または６を使用して決定することができる。２つのヌクレオチドまたはアミノ酸配列間の同一性パーセントは、ＡＬＩＧＮプログラム（バージョン２．０）に組み込まれているＥ．Ｍｅｙｅｒｓ　ａｎｄ　Ｗ．Ｍｉｌｌｅｒ（ＣＡＢＩＯＳ，４：１１－１７（１９８９））のアルゴリズムを使用して、ＰＡＭ１２０重み残基テーブル、ギャップ長さペナルティ１２、ギャップペナルティ４を使用して決定することもできる。さらに、２つのアミノ酸配列間の同一性パーセントは、ＧＣＧソフトウェアパッケージ（ｗｗｗ．ｇｃｇ．ｃｏｍで入手可能）のＧＡＰプログラムに組み込まれているＮｅｅｄｌｅｍａｎ　ａｎｄ　Ｗｕｎｓｃｈ（Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．（４８）：４４４－４５３（１９７０））のアルゴリズムを使用して、Ｂｌｏｓｓｕｍ６２マトリックスまたはＰＡＭ２５０マトリックスのいずれか、ギャップ重み１６、１４、１２、１０、８、６、または４、長さ重みを１、２、３、４、５、または６を使用して決定することができる。

【０１２６】

本明細書に記載の核酸配列及びタンパク質配列は、例えば他のファミリーメンバーまたは関連配列を特定するために公共のデータベースに対して検索を行うための「クエリー配列」としてさらに使用してもよい。そのような検索は、Ａｌｔｓｃｈｕｌ，ｅｔ　ａｌ．（１９９０）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２１５：４０３－１０のＮＢＬＡＳＴ及びＸＢＬＡＳＴプログラム（バージョン２．０）を用いて実施することができる。ＢＬＡＳＴヌクレオチド検索を、ＮＢＬＡＳＴプログラム、スコア＝１００、ワード長＝１２を用いて実施して、本明細書に記載の核酸分子に相同なヌクレオチド配列を得ることができる。ＢＬＡ

ＳＴタンパク質検索を、ＸＢＬＡＳＴプログラム、スコア＝５０、ワード長＝３を用いて実施して、本明細書に記載のタンパク質分子に相同なアミノ酸配列を得ることができる。比較目的のためのギャップアライメントを得るために、Ａｌｔｓｃｈｕｌ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９７）Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．２５（１７）：３３８９－３４０２に記載のように利用することができる。ＢＬＡＳＴ及びＧａｐｐｅｄ　ＢＬＡＳＴプログラムを利用する場合、それぞれのプログラムのデフォルトパラメータ（例えば、ＸＢＬＡＳＴ及びＮＢＬＡＳＴ）を使用してもよい。ｗｏｒｌｄｗｉｄｅｗｅｂ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖを参照のこと。

【０１２７】

「抗体」（Ａｂ）には、抗原に特異的に結合し、ジスルフィド結合によって相互接続された少なくとも２つの重（Ｈ）鎖と２つの軽（Ｌ）鎖を含む糖タンパク質免疫グロブリン、またはその抗原結合部分が含まれるが、これらに限定されない。各Ｈ鎖は、重鎖可変領域（本明細書でV_Hと略記される）及び重鎖定常領域を含む。重鎖定常領域は、３つの定常ドメインC_{H1}、C_{H2}、及びC_{H3}を含む。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書でV_Lと略記される）及び軽鎖定常領域を含む。軽鎖定常領域は、１つの定常ドメインC_Lを含む。V_H及びV_L領域は、フレームワーク領域（ＦＲ）と称されるより保存された領域と共に散在する、相補性決定領域（ＣＤＲ）と称される超可変性の領域に、さらに細分することができる。各V_H及びV_Lは、３つのＣＤＲ及び４つのＦＲを含み、アミノ末端からカルボキシ末端へと、次の順序で配列される：ＦＲ１、ＣＤＲ１、ＦＲ２、ＣＤＲ２、ＦＲ３、ＣＤＲ３、及びＦＲ４。重鎖と軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。抗体の定常領域は、免疫系のさまざまな細胞（例えば、エフェクター細胞）及び古典的な補体系の第１の成分（Ｃ１ｑ）などの宿主組織または因子への免疫グロブリンの結合を媒介することができる。例えば、「抗ＧＡＬ抗体」という用語には、α－ＧａｌＡに特異的に結合する２つの重鎖と２つの軽鎖を持つ完全な抗体と、完全な抗体の抗原結合部分が含まれる。

【０１２８】

免疫グロブリンは、ＩｇＡ、分泌型ＩｇＡ、ＩｇＧ、ＩｇＭを含むがこれらに限定されない、一般に知られているアイソタイプのいずれかに由来し得る。ＩｇＧサブクラスも当業者には周知であり、ヒトＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、及びＩｇＧ４を含むがこれらに限定されない。「アイソタイプ」とは、重鎖定常領域遺伝子によってコード化される抗体のクラスまたはサブクラス（例えば、ＩｇＭまたはＩｇＧ１）を指す。「抗体」という用語には、例として、天然に存在する抗体と非天然に存在する抗体の両方、モノクローナル抗体及びポリクローナル抗体、キメラ抗体及びヒト化抗体、ヒトまたは非ヒト抗体、完全に合成された抗体、並びに、一本鎖抗体が挙げられる。非ヒト抗体は、組み換え方法によってヒト化され、ヒトにおける免疫原性を低減することができる。明示的に記載されていない場合、及び文脈上別段の記載がない限り、「抗体」という用語には、前述の免疫グロブリンのいずれかの抗原結合断片または抗原結合部分も含まれ、一価及び二価の断片または部分、及び一本鎖抗体も含まれる。

【０１２９】

「単離抗体」とは、異なる抗原特異性を有する他の抗体が実質的に含まれない抗体を指す（例えば、α－Ｇａｌ　Ａに特異的に結合する単離抗体は、α－Ｇａｌ　Ａ以外の抗原に特異的に結合する抗体が実質的に含まれない）。しかし、α－Ｇａｌ　Ａに特異的に結合する単離抗体は、異なる種のα－Ｇａｌ　Ａ分子など、他の抗原に対して交差反応性を示す可能性がある。さらに、単離された抗体には、他の細胞物質及び／または化学物質が実質的に含まれない可能性がある。

【０１３０】

「抗抗原抗体」とは、抗原に特異的に結合する抗体を指す。例えば、抗ＧＡＬ抗体はＧＡＬに特異的に結合する。

【０１３１】

「抗ＧＬＡ中和抗体」、「抗ＧＬＡ　ＮＡｂ」、「抗薬物抗体」、「ＡＤＡ」、「中和

抗薬物抗体」、または「中和ＡＤＡ」という用語は、α－Ｇａｌ　Ａ酵素に結合して不活性化（中和）する抗体を指す。いくつかの態様において、抗ＧＬＡ中和抗体が存在する場合、酵素補充療法は、血漿中の抗ＧＬＡ中和抗体によって直接不活性化（中和）される（Ｌｉｎｔｈｏｒｓｔ　ｅｔ　ａｌ．，Ｋｉｄｎｙ　Ｉｎｔ　６６：１５８９－１５９５（２００４）；Ｌｅｎｄｅｒｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ａｌｌｅｒｇｙ　Ｃｌｉｎ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　１４１：２２８９－２２９２．ｅ７（２０１８））。

【０１３２】

抗体の「抗原結合部分」（「抗原結合断片」とも呼ばれる）は、抗体全体が結合する抗原に特異的に結合する能力を保持する抗体の１つ以上の断片を指す。抗体の抗原結合機能は、完全長抗体の断片によって行われ得ることが示されてきた。抗体、例えば、本明細書に記載の抗ＧＬＡ３抗体の「抗原結合部分」という用語に包含される結合断片の例としては、（ｉ）Ｆａｂ断片（パパイン切断からの断片）、または、V_L、V_H、ＬＣ、及びＣＨ１ドメインからなる同様の一価の断片、（ｉｉ）Ｆ（ａｂ’）２断片（パパイン切断からの断片）、または、ヒンジ領域においてジスルフィド架橋によって連結される２つのＦａｂ断片を含む同様の二価の断片、（ｉｉｉ）V_H及びＣＨ１ドメインからなるＦｄ断片、（ｉｖ）抗体の単一アームのV_L及びV_HドメインからなるＦｖ断片、（ｖ）V_HドメインからなるｄＡｂ断片（Ｗａｒｄ　ｅｔ　ａｌ．，（１９８９）Ｎａｔｕｒｅ３４１：５４４－５４６）、（ｖｉ）単離された相補性決定領域（ＣＤＲ）、及び、（ｖｉｉ）合成リンカーによって任意に接合され得る２つ以上の単離されたＣＤＲの組み合わせが挙げられる。さらに、Ｆｖ断片の２つのドメインV_L及びV_Hは、別個の遺伝子によってコードされるが、それらは、組み換え法を使用して、それらが単一のタンパク質鎖として作製されることを可能にする合成リンカーによって、接合することができ、そのV_L及びV_H領域は対となって、一価の分子（一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）として知られる）を形成する；例えば、Ｂｉｒｄ　ｅｔ　ａｌ．（１９８８）Ｓｃｉｅｎｃｅ２４２：４２３－４２６；及びＨｕｓｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．（１９８８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ８５：５８７９－５８８３を参照のこと。かかる一本鎖抗体もまた、抗体の「抗原結合部分」という用語に包含されることが意図される。これらの抗体断片は、当業者に周知の従来の技術を使用して得られ、そしてこの断片は、インタクトな抗体と同じ様式で有用性についてスクリーニングされる。抗原結合部分は、組み換えＤＮＡ技術、または完全な免疫グロブリンの酵素的または化学的切断によって生成することができる。

【０１３３】

「結合親和性」は、概して、分子（例えば、抗体）の単一の結合部位と、その結合パートナー（例えば、抗原）との間の非共有相互作用の合計の強度を指す。別段の指示がない限り、本明細書で使用される「結合親和性」は、結合対のメンバー（例えば、抗体と抗原）の間の１：１の相互作用を反映する、固有結合親和性を指す。分子Ｘの、そのパートナーＹに対する親和性は一般に、解離定数（K_D）によって表すことができる。親和性は、平衡解離定数（K_D）、平衡結合定数（K_A）を含むがこれらに限定されない、当該技術分野で周知のさまざまな方法で測定及び／または表現することができる。K_Dは、k_{off}／k_{on}の商から計算され、モル濃度（Ｍ）として表され、一方、K_Aは、k_{on}／k_{off}の商から計算される。k_{on}は、例えば、抗体と抗原の結合速度定数を指し、k_{off}は、例えば、抗体と抗原の解離を指す。k_{on}及びk_{off}は、免疫アッセイ（例えば、酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ））、ＢＩＡｃｏｒｅ（登録商標）、ＢＬＩ（バイオレイヤー干渉法）、または速度論的排除アッセイ（ＫｉｎＥｘＡ（登録商標））などの当業者に周知の技術によって決定することができる。

【０１３４】

本明細書で使用される場合、「特異的に結合する」、「特異的に認識する」、「特異的結合」、「選択的結合」及び「選択的に結合する」という用語は、は、抗体の文脈における類似の用語であり、当業者が理解する結合に従って抗原（例えば、エピトープまたは免疫複合体）に結合する分子（例えば、抗体）を指す。例えば、抗原に特異的に結合する分子は、例えば、免疫アッセイ、ＢＩＡｃｏｒｅ（登録商標）、ＫｉｎＥｘＡ（登録商標）

３０００機器（Ｓａｐｉｄｙｎｅ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ、Ｂｏｉｓｅ、ＩＤ）、または当該技術分野で周知の他のアッセイによって決定されるように、一般に低い親和性で、他のペプチドまたはポリペプチドに結合することができる。特定の態様において、抗原に特異的に結合する分子は、分子が別の抗原に結合するときのK_Aよりも少なくとも２ログ、２．５ログ、３ログ、４ログまたはK_A超で抗原に結合する。

【０１３５】

抗体は通常、10^{-5}～10^{-11}Ｍ以下の解離定数（K_D）に反映されるように、高い親和性で同族抗原に特異的に結合する。約10^{-4}Ｍ超のK_Dは、通常、非特異的結合を示していると考えられる。本明細書で使用される場合、抗原に「特異的に結合する」抗体とは、抗原及び実質的に同一の抗原に高い親和性で結合する抗体を指し、これは、例えば、所定の抗原を使用するＢＩＡＣＯＲＥ（商標）２０００機器における免疫アッセイ（例えば、ＥＬＩＳＡ）表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）技術、またはＢＬＩ（バイオレイヤー干渉法）によって測定した場合に、10^{-7}Ｍ以下、好ましくは10^{-8}Ｍ以下、さらにより好ましくは10^{-9}Ｍ以下、最も好ましくは10^{-8}Ｍから10^{-10}Ｍ以下のK_Dを有するが、無関係の抗原には高い親和性で結合しないことを意味する。

【０１３６】

本明細書で使用される「組み換え宿主細胞」（または単に「宿主細胞」）という用語は、細胞内に自然に存在しない核酸を含む細胞を指すことを意図しており、組み換え発現ベクターが導入された細胞であってもよい。このような用語は、特定の対象細胞だけではなく、そのような細胞の子孫も指すことを意図することを理解されたい。変異または環境的影響のいずれかに起因して、後続の世代においていくつかの修飾が起こる場合があるため、かかる子孫は、実際には、親細胞と同一でない場合があるが、本明細書で使用される用語「宿主細胞」の範囲内に依然として含まれる。

【０１３７】

本明細書で使用される場合、「結合」という用語は、２つ以上の分子の結合を指す。この結合は、共有結合性または非共有結合性であり得る。結合は、遺伝的なもの（すなわち、組み換え融合）でもあり得る。このような結合は、化学結合や組み換えタンパク質の生成など、当技術分野で認められたさまざまな技術を使用して実現することができる。

【０１３８】

「ファブリー病」という用語は、古典型ファブリー病、遅発性ファブリー病、及びα－Ｇａｌ　Ａをコードする遺伝子に変異を有するヘミ接合体女性を指す。本明細書において使用される「ファブリー病」という用語には、対象が正常よりも低い内因性α－Ｇａｌ　Ａ活性を示す任意の状況もさらに含む。ファブリー病は、アルファガラクトシダーゼＡ欠乏症、アンダーソン・ファブリー病、びまん性体部被角血管腫、びまん性被角血管腫、セラミドトリヘキソシダーゼ欠乏症、ファブリー病、ＧＬＡ欠乏症、遺伝性異所性リピドーシスなど、多くの他の名前で呼ばれている。いくつかの態様において、ファブリー病は、１型の古典型表現型、または２型の遅発型表現型である。

【０１３９】

「酵素補充療法」または「ＥＲＴ」という用語は、非天然の精製酵素を、そのような酵素（例えば、α－Ｇａｌ　Ａ）が欠乏している個体に導入することを指す。投与される酵素は、天然源から、または組み換え発現によって得ることができる。この用語は、例えば、タンパク質不足を患っているなど、精製酵素の投与を必要とする、または精製酵素の投与から利益を受ける個人に精製酵素を導入することも指す。導入される酵素は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで生成された精製された組み換え酵素、または、例えば、胎盤または動物乳、または植物など、単離された組織もしくは液体から精製された酵素であり得る。

【０１４０】

「共製剤」という用語は、ＥＲＴに使用される酵素（例えば、ヒト組み換えα－Ｇａｌ　Ａ酵素（ｒｈα－Ｇａｌ　Ａ））などの酵素を含む組成物を指し、それは、α－Ｇａｌ　Ａ酵素の活性部位特異的シャペロン（ＡＳＳＣ）（例えば、１－デオキシガラクトノジリマイシン（ＤＧＪ））と一緒に配合される。いくつかの態様において、ＡＳＳＣは、１－

デオキシガラクトノジリマイシン（ＤＧＪ）、または１－デオキシガラクトノジリマイシンの薬学的に許容される塩、エステル、もしくはプロドラッグである。いくつかの態様において、塩は、塩酸塩（すなわち、１－デオキシガラクトノジリマイシン－ＨＣｌ）である。いくつかの態様において、対象を共製剤で治療することは、α－Ｇａｌ　Ａ酵素及びＡＳＳＣが共製剤の一部として同時に投与されるように、対象に共製剤を投与することを含む。

【０１４１】

「併用療法」という用語は、各療法を個別に実施した場合の効果と比較して結果が向上する療法を指す。併用療法における個々の療法は、同時にまたは連続して実施することができる。

【０１４２】

向上には、単独で実施した場合の療法によって達成された結果と比較して有利な結果をもたらし得る、さまざまな療法の効果の改善が含まれる。向上した効果及び向上した効果の判定は、時間的パラメータ（例えば、治療期間、回復時間、治療の長期的効果、または治療の可逆性）；生物学的パラメータ（例えば、細胞数、細胞体積、細胞組成、組織体積、組織サイズ、組織組成）；空間的パラメータ（例えば、組織強度、組織サイズ、または組織アクセシビリティ）；及び生理学的パラメータ（例えば、身体の輪郭、痛み、不快感、回復時間、または目に見える痕跡）などのさまざまなパラメータによって測定できるが、これらに限定されない。向上した効果は、相乗的向上を含み得、向上した効果は、各療法を単独で実施した場合の相加効果を超えるものである。向上した効果はまた、相加的向上も含み得、向上した効果は、各療法を単独で実施した場合の相加効果と実質的に同等のものである。向上した効果は、相乗効果未満の効果も含み得、向上した効果は、各療法を単独で実行した場合の相加効果よりも低いが、それでも各療法を単独で実行した場合の効果よりは優れている。

【０１４３】

「適切な構造を安定化する」という用語は、化合物、ペプチド、またはその他の分子が、野生型タンパク質、またはｉｎ　ｖｉｔｒｏ及びｉｎ　ｖｉｖｏで野生型の機能を発揮できる変異タンパク質と結合して、野生型または変異タンパク質の構造をその本来のまたは適切な形態として維持できる能力を指す。この効果は、（ｉ）タンパク質の保存期間の延長、（ｉｉ）タンパク質単位／量あたりのより高い活性、（ｉｉｉ）より大きいｉｎ　ｖｉｖｏ有効性のうちの１つ以上を通じて実際に顕著となり得る。これは、発現中のＥＲからの収量の増加、温度上昇による展開に対する抵抗の増加（例えば、熱安定性アッセイで決定される）、またはカオトロピック剤の存在など、同様の手段によって実験的に観察することができる。

【０１４４】

本明細書で使用される場合、「活性部位」という用語は、特定の生物学的活性を有するタンパク質の領域を指す。例えば、基質または他の結合パートナーに結合し、化学結合の形成と切断に直接関与するアミノ酸残基を提供する部位であり得る。本出願における活性部位は、酵素の触媒部位、抗体の抗原結合部位、受容体のリガンド結合ドメイン、調節因子の結合ドメイン、または分泌タンパク質の受容体結合ドメインを包含し得る。活性部位には、転写活性化、タンパク質間相互作用、または転写因子及び調節因子のＤＮＡ結合ドメインも含まれ得る。

【０１４５】

本明細書で使用される場合、「活性部位特異的シャペロン」という用語は、タンパク質の活性部位と特異的に可逆的に相互作用し、安定した分子構造の形成を促進するタンパク質、ペプチド、核酸、炭水化物などを含むあらゆる分子を指す。本明細書で使用される場合、「活性部位特異的シャペロン」には、Ｂｉｐ、カルネキシン、カルレティキュリンなどの細胞のＥＲに存在する内因性の一般的なシャペロン、または重水素化水、ＤＭＳＯ、ＴＭＡＯなどの一般的な非特異的化学シャペロンは含まれない。

【０１４６】

「非酵素補充療法」という用語は、酵素補充療法ではない療法（例えば、ファブリー病療法）を指す。非酵素補充療法には、小分子療法が含まれ得る。ファブリー病の小分子療法のためのいくつかの新たな医薬品開発戦略には、基質還元療法（ＳＲＴ）、残留酵素活性化、ＧＬＡプロモーター活性化、タンパク質恒常性調節（プロテオスタシス）、及び化学シャペロン療法（ＣＣＴ）が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１４７】

「免疫療法」という用語は、免疫応答を誘導、増強、抑制、または修正することを含む方法によって、疾患を患っているか、または疾患を罹患もしくは再発するリスクがある対象を治療することを指す。対象の「治療」または「療法」とは、疾患（ファブリー病など）に関連する症状、合併症、状態、または生化学的徴候の発症、進行、発達、重症度または再発を逆転、緩和、改善、阻害、遅延または予防することを目的として、対象に対して行われるあらゆる種類の介入またはプロセス、あるいは対象への活性剤の投与を指す。「免疫抑制療法」とは、対象の免疫応答を減少（軽減）させる治療法を指す。

【０１４８】

本明細書で使用される「細胞と接触させる」（例えば、細胞と本開示のＡＡＶ発現ベクターまたは組成物とを接触させる）という語句には、細胞と直接的または間接的に接触させることが含まれる。いくつかの態様において、細胞を本開示のＡＡＶ発現ベクターまたは組成物と接触させることは、細胞をｉｎ　ｖｉｔｒｏで組成物またはＡＡＶベクターと接触させること、または細胞をｉｎ　ｖｉｖｏで本開示のＡＡＶベクターまたは組成物と接触させることを含む。したがって、例えば、本開示のＡＡＶベクターまたは組成物は、本方法を実行する個人によって細胞と物理的に接触させることができるか、または、代替的に、本開示のＡＡＶベクターまたは組成物は、その後細胞と接触することを可能にするかまたは接触させる状況に置くことができる。

【０１４９】

いくつかの態様において、細胞をｉｎ　ｖｉｔｒｏで接触させることは、例えば、細胞をＡＡＶベクターとともにインキュベートすることによって行うことができる。いくつかの態様において、ｉｎ　ｖｉｖｏでの細胞との接触は、例えば、本開示のＡＡＶベクターまたは組成物を細胞が存在する組織内またはその近くに注入することによって、または本開示のＡＡＶベクターまたは組成物を別の領域、例えば、血流または皮下空間に注入することによって行われてもよく、それにより、薬剤はその後、接触する細胞が存在する組織に到達する。例えば、ＡＡＶベクターは、ＡＡＶベクターを目的の部位に誘導するリガンドにカプセル化及び／または結合することができる。としてｉｎ　ｖｉｔｒｏとｉｎ　ｖｉｖｏの組み合わせの接触方法も可能である。例えば、細胞を本開示のＡＡＶベクターまたは組成物とｉｎ　ｖｉｔｒｏで接触させ、その後、対象に移植することができる。

【０１５０】

いくつかの態様において、細胞を本開示のＡＡＶベクターまたは組成物と接触させることには、細胞への取り込みまたは吸収を促進または実行することによって、本開示のＡＡＶベクターまたは組成物を細胞に「導入する」または「送達する」（直接的または間接的に）ことが含まれる。本開示のＡＡＶベクターまたは組成物を細胞に導入することは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ及び／またはｉｎ　ｖｉｖｏであり得る。例えば、ｉｎ　ｖｉｖｏ導入の場合、本開示のＡＡＶベクターまたは組成物は、特定の組織部位（例えば、治療効果が望まれる部位）に注入するか、または全身投与（例えば、治療効果が望まれる部位を標的としたＡＡＶベクターの投与）することができる。細胞へのｉｎ　ｖｉｔｒｏ導入法としては、電気穿孔法及びリポフェクション法などの当該技術分野で周知の方法が挙げられる。

【０１５１】

本明細書で使用する場合、例えば、本明細書に開示されるＡＡＶベクターまたは組成物の「有効量」、「治療有効量」、及び「十分な量」という用語は、ヒトを含む対象に投与された場合に、臨床結果を含む有益な結果または望ましい結果をもたらすのに十分な量を指し、したがって、「有効量」またはその同義語は、それが適用される文脈によって異なる。いくつかの態様において、薬剤（例えば、本明細書に開示されるＡＡＶベクターまた

は組成物）の治療有効量とは、対照と比較して対象において有益な結果または望ましい結果をもたらす量である。

【０１５２】

所与の薬剤（例えば、本明細書に開示されるＡＡＶベクターまたは組成物）の量は、所与の薬剤、医薬製剤、投与経路、疾患もしくは障害の種類、対象の身元（例えば、年齢、性別、及び／または体重）または治療される宿主などのさまざまな要因に応じる量に対応する。

【０１５３】

本明細書で使用される場合、「遺伝子療法」という用語は、疾患を治療し、疾患の症状を軽減し、または疾患の可能性を軽減するために、核酸配列（例えば、本明細書に開示される免疫調節タンパク質（例えば、サイトカインまたはそのサブユニット）またはその機能的断片をコードする核酸に作動可能に連結されたプロモーターを含むポリヌクレオチド）を個体の細胞及び／または組織に挿入することである。遺伝子療法には、本質的に阻害性の、すなわち、望ましくないまたは異常な（例えば、病原性の）遺伝子またはタンパク質などの内因性遺伝子またはタンパク質の発現、活性または機能を阻害、減少または低減する導入遺伝子の挿入も含まれる。このような導入遺伝子は外因性であり得る。外因性分子または配列とは、治療対象となる細胞、組織、及び／または個体に通常は存在しない分子または配列であると理解される。後天性疾患と先天性疾患の両方が、遺伝子療法の対象である。

【０１５４】

本明細書で使用される、「予防有効量」という用語には、疾患または障害（例えば、ファブリー病）に罹患しているか、またはその素因がある対象に投与された場合、疾患または障害、または疾患または障害の１つ以上の症状を予防、軽減、または改善するのに十分な薬剤（例えば、本明細書に開示されるＡＡＶベクターまたは組成物）の量を含む。病気または障害を改善することには、病気や障害の進行を遅らせたり、後に発症する病気や障害の重症度を軽減したりすることが含まれる。「予防有効量」は、薬剤（例えば、本開示のＡＡＶ発現ベクターまたは組成物）の特性、薬剤の投与方法、疾患のリスクの程度、及び治療対象となる患者の病歴、年齢、体重、家族歴、遺伝子構成、先行治療または同時治療の種類（ある場合）、及びその他の個人特性に応じて変化し得る。

【０１５５】

本明細書で使用される場合、「オフターゲット」とは、１つ以上の標的、遺伝子、または細胞転写物に対する意図しない影響を指す。

【０１５６】

本明細書において使用される場合、「ｉｎ　ｖｉｔｒｏ」という用語は、生物（例えば、動物、植物、または微生物）の中ではなく、人工環境において、例えば、試験管もしくは反応容器中、細胞培養中、ペトリ皿中等で起こる事象を指す。

【０１５７】

本明細書において使用される場合、「ｉｎ　ｖｉｖｏ」という用語は、生物（例えば、動物、植物、または微生物、またはその細胞及び組織）の中で起こる事象を指す。

【０１５８】

本明細書で使用される場合、「トランスフェクション」という用語は、外因性の核酸を細胞に導入する方法を指す。トランスフェクションの方法には、化学的方法、物理的処理、カチオン性脂質またはその混合物が挙げられるが、これらに限定されない。細胞にトランスフェクトできる物質のリストは膨大であり、例えば、ｓｉＲＮＡ、ｓｈＲＮＡ、センス配列及び／またはアンチセンス配列、１つ以上の遺伝子をコードし、ベクターなどの発現プラスミドに編成されたＤＮＡなどが挙げられる。

【０１５９】

「タンパク質のレベルを決定する」とは、当該技術分野で周知の方法によって、直接的または間接的に、タンパク質、またはタンパク質をコードするｍＲＮＡを検出することを意味する。「直接決定する」とは、物理的実体または値を取得するためのプロセス（例え

ば、サンプルに対してアッセイまたはテストを実行する、または本明細書で定義されている用語としての「サンプルを分析する」）を実行することを意味する。「間接的に決定すること」は、別の団体または供給源（例えば、物理的実体または値を直接的に取得した第３者の研究室）から物理的実体または値を受領することを指す。タンパク質レベルを測定する方法には、概して、ウェスタンブロット法、免疫ブロット法、酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ）、放射免疫測定法（ＲＩＡ）、免疫沈降、免疫蛍光、表面プラズモン共鳴、化学発光、蛍光偏光、リン光、免疫組織化学分析、マトリクス支援レーザ脱離／イオン化飛行時間（ＭＡＬＤＩ－ＴＯＦ）質量分析法、液体クロマトグラフィー（ＬＣ）質量分析法、マイクロサイトメトリ、顕微鏡法、蛍光活性化細胞分類（ＦＡＣＳ）、及びフローサイトメトリ、並びに限定されないが、酵素活性または他のタンパク質パートナーとの相互作用を含む、タンパク質の性質に基づくアッセイが挙げられるが、それらに限定されない。ｍＲＮＡレベルを測定する方法は、当該技術分野で周知である。

【０１６０】

本明細書で使用される「レベル」という用語は、任意に基準と比較した、タンパク質またはタンパク質をコードするｍＲＮＡのレベル／量または活性を指す。基準は、本明細書で定義されているように、任意の有用な基準であり得る。タンパク質のレベルは、質量／体積（例えば、ｇ／ｄＬ、ｍｇ／ｍＬ、μｇ／ｍＬ、ｎｇ／ｍＬ）またはサンプル中の総タンパク質またはｍＲＮＡに対する割合で表すことができる。

【０１６１】

本明細書で使用される、タンパク質の「減少したレベル」または「低減されたレベル」という用語は、基準と比較したタンパク質レベルの減少／低減を意味する。本明細書において使用される、対象における「スフィンゴ糖脂質の量を減らす」という用語は、投与前の同じ対象におけるスフィンゴ糖脂質の量（ｎｇ／ｍｌ）と比較して、スフィンゴ糖脂質（例えば、グロボトリアオシルセラミド（Ｇｂ３）、グロボトリアオシルスフィンゴシン（ｌｙｓｏ－Ｇｂ３）、ガラビオシルセラミド、またはそれらの任意の組み合わせ）の量（ｎｇ／ｍｌ）が減少／低減することを意味する。スフィンゴ糖脂質の量（ｎｇ／ｍｌ）の減少／低減は、本明細書の以下の実施例２に記載されているように、ベースラインポイントから最後の測定ポイントまで測定される。いくつかの態様において、スフィンゴ糖脂質の量（例えば、ｌｙｓｏ－Ｇｂ３濃度（ｎｇ／ｍｌ））は、本明細書の以下の実施例２に記載されているように、ベースラインポイントから最後の測定ポイントまで測定される。いくつかの態様において、スフィンゴ糖脂質の量（例えば、Ｇｂ３濃度（ｎｇ／ｍｌ））は、本明細書の以下の実施例２に記載されているように、ベースラインポイントから最後の測定ポイントまで測定される。本明細書で使用される「ベースラインポイント」という用語は、本開示のＡＡＶ発現ベクターまたは医薬組成物の投与直前の時点を指す。

【０１６２】

本明細書で使用される、タンパク質の「増加したレベル」という用語は、基準と比較したタンパク質レベルの増加を意味する。本明細書で使用される場合、対象における「α－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）タンパク質活性の増加」という用語は、投与前の対象におけるα－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性に対するα－Ｇａｌ　Ａタンパク質（酵素）活性（ｎｍｏｌ／ｈ／ｍｌ）の増加を意味し、α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性の増加は、本明細書の以下の実施例２に記載されているように測定される。

【０１６３】

本明細書で使用される、タンパク質の「維持したレベル」という用語は、基準と比較したタンパク質レベルに有意な減少／低減または増加がなかったことを意味する。本明細書において使用される、対象における「スフィンゴ糖脂質の量を維持する」という用語は、投与前の同じ対象におけるスフィンゴ糖脂質の量と比較して、スフィンゴ糖脂質（例えば、グロボトリアオシルセラミド（Ｇｂ３）、グロボトリアオシルスフィンゴシン（ｌｙｓｏ－Ｇｂ３）、ガラビオシルセラミド、またはそれらの任意の組み合わせ）の量に統計的に有意な減少／低減または増加がなかったことを意味する。いくつかの態様において、対象は、酵素補充療法（ＥＲＴ）前治療を受けた対象である。ＥＲＴは、安定用量（同意前

の６か月間にＥＲＴの投与を４回以上欠かしていないと定義）及びレジメン（登録前の少なくとも３か月間は１４日±１日）で投与されている必要がある。ある部分が統計的に有意であるかどうかは、例えば、信頼区間の決定、ｐ値の決定、スチューデントのｔ検定、マン・ホイットニー検定など、さまざまなよく知られた統計評価ツールを使用することにより、当業者によって簡単な方法で決定することができる。詳細は、Ｄｏｗｄｙ ａｎｄ Ｗｅａｒｄｅｎ，Ｓｔａｔｉｓｔｉｃｓ ｆｏｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ １９８３に記載されている。好ましい信頼区間は、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％である。ｐ値は、好ましくは０．１、０．０５、０．０１、０．００５、または０．０００１である。

【０１６４】

本明細書で使用される場合、「医薬組成物」という用語は、本明細書に記載される化合物または分子、例えば本明細書に開示されるＡＡＶベクターを含み、薬学的に許容される賦形剤とともに配合され、哺乳動物の疾患の治療のための治療計画の一部として政府規制機関の承認を得て製造または販売することができる組成物を表す。

【０１６５】

本明細書で使用される「薬学的に許容される賦形剤」とは、患者において実質的に非毒性かつ非炎症性であるという性質を有する、本明細書で説明される化合物以外の任意の成分（例えば、活性化合物を懸濁または溶解させることが可能な媒介物）を意味する。

【０１６６】

「基準」とは、タンパク質またはｍＲＮＡのレベルまたは活性を比較するために使用される有用な基準を意味する。基準は、比較目的で使用される任意のサンプル、標準、標準曲線、またはレベルであり得る。基準は、通常の基準サンプル、または基準標準またはレベルであり得る。「基準サンプル」は、例えば、対照、例えば「正常対照」などの所定の陰性対照値、または同じ対象から採取された以前のサンプル、正常細胞または正常組織などの正常で健康な対象からのサンプル、疾患のない対象からのサンプル（例えば、細胞または組織）、疾患と診断されたが本明細書に記載の化合物でまだ治療されていない対象からのサンプル、本明細書に記載の化合物で治療された対象からのサンプル、または既知の正常濃度の精製タンパク質（例えば、本明細書に記載のもの）のサンプルであり得る。

【０１６７】

本明細書で使用される場合、「対象」という用語は、本明細書に開示される組成物、例えば、本開示のＡＡＶ発現ベクターまたは組成物を、例えば、実験、診断、予防、及び／または治療の目的で投与することができる任意の生物を指す。典型的な対象には、任意の動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、非ヒト霊長類、及びヒトなどの哺乳類）が挙げられる。対象は、治療を求めている、治療を必要としている、治療を要求している、治療を受けている、将来治療を受ける、または特定の病気や症状について訓練を受けた専門家によるケアを受けているヒトまたは動物であり得る。いくつかの態様において、対象はヒトである。「対象」及び「患者」という用語は、本明細書では同義に使用される。

【０１６８】

本明細書で使用される場合、「同等のファブリー病に罹患した未治療の対象」という用語は、例えば、年齢、性別、人種、及び／または疾患の発現によって治療対象と一致するヒト対象を指す。（例えば、Ｇｉｕｇｌｉａｎｉ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｉｎｂｏｒｎ Ｅｒｒｏｒｓ ｏｆ Ｍｅｔａｂｏｌｉｓｍ＆Ｓｃｒｅｅｎｉｎｇ Ｖｏｌｕｍｅ ４：１－１２（２０１６）を参照のこと）。

【０１６９】

本明細書で使用される「体重１キログラムあたりのベクターゲノム（ｖｇ／ｋｇ）」という用語は、対象に投与される発現カセット（例えば、本開示のα－Ｇａｌ Ａ発現カセット）のコピーを指す。体重１キログラムあたりのベクターゲノムのコピー数は、定量ＰＣＲ及び／またはドロップレットデジタルＰＣＲによって測定することができる。

【０１７０】

本開示の方法及び投与量に関して「一定用量」という用語を使用する場合、患者の体重または体表面積（ＢＳＡ）に関係なく患者に投与される投与量を意味する。したがって、一定用量は、ｍｇ／ｋｇ用量としてではなく、むしろ薬剤（例えば、組み換えα－Ｇａｌ Ａタンパク質）の絶対量として提供される。例えば、体重６０ｋｇの人と１００ｋｇの人が、同量の抗体（例えば、１２ｍｇの組み換えα－Ｇａｌ Ａタンパク質）を投与されるであろう。

【０１７１】

本明細書で指す「体重に基づく用量」という用語は、患者に投与される用量が、患者の体重に基づいて計算されることを意味する。例えば、体重６０ｋｇの患者に０．２ｍｇ／ｋｇの組み換えα－Ｇａｌ Ａタンパク質が必要な場合、投与に適した量の組み換えα－Ｇａｌ Ａタンパク質（つまり１２ｍｇ）を計算して使用することができる。

【０１７２】

薬物または治療薬の「治療有効量」または「治療有効投与量」は、単独で、または別の治療薬と組み合わせて使用した場合、疾患の発症から対象を保護するか、疾患症状の重症度の軽減、疾患症状のない期間の頻度及び期間の増加、または疾患による障害または身体障害の予防によって証明される疾患の退縮を促進する任意の薬物の量である。治療薬が疾患の退縮を促進する能力は、臨床試験中のヒト対象、ヒトでの有効性を予測する動物モデルシステム、またはｉｎ ｖｉｔｒｏアッセイで治療薬の活性をアッセイするなど、熟練した専門家に知られているさまざまな方法を使用して評価することができる。

【０１７３】

本明細書で使用される「治療する」、「治療すること」及び「治療」という用語は、疾患に関連する症状、合併症、状態または生化学的徴候の進行、発症、重症度または再発を逆転、緩和、改善、阻害、または遅延または防止すること、あるいは全生存率を向上させることを目的として、対象に対して実行される、または対象に活性剤を投与する、あらゆる種類の介入またはプロセスを指す。治療は、疾患のある対象または疾患のない対象（予防など）に対して行われ得る。

【０１７４】

本明細書で使用される場合、ある状態に関連して使用される「予防」という用語は、組成物を投与されない対象と比較して、対象の病状の症状の頻度を減らす、または症状の発現を遅らせる組成物の投与を指す。

【０１７５】

「改善」という用語は、例えば、ファブリー病の疾患状態の治療における治療上有益な結果を指し、予防、重症度または進行の軽減、寛解、または治癒が含まれる。いくつかの態様において、本開示の方法は、ファブリー病に関連する１つ以上の症状を改善することを、それを必要とするヒト対象に行うことである。

【０１７６】

用語「有効量」または「有効投与量」は、所望の効果を達成する、または少なくとも部分的に達成するのに十分な量として定義される。薬物または治療薬の「治療有効量」または「治療有効投与量」は、単独で、または別の治療薬と組み合わせて使用した場合、疾患症状の重症度の軽減、疾患症状のない期間の頻度及び期間の増加、全生存期間（ファブリー病などの疾患の診断日または治療開始日から、その疾患と診断された患者がまだ生存している期間）の延長、または疾患の苦痛による障害または身体障害の予防によって証明される疾患の退縮を促進する薬物の量である。薬物の治療有効量または投与量には、「予防有効量」または「予防有効投与量」が含まれ、これは、疾患を発症するリスクがある、または疾患が再発するリスクがある対象に、単独で、または別の治療薬と組み合わせて投与された場合に、疾患の発症または再発を抑制する薬物の量である。治療薬が疾患の退縮を促進する、または疾患の発症または再発を抑制する能力は、臨床試験中のヒト対象、ヒトでの有効性を予測する動物モデルシステム、またはｉｎ ｖｉｔｒｏアッセイで治療薬の活性をアッセイするなど、熟練した専門家に知られているさまざまな方法を使用して評価することができる。

【０１７７】
本開示の「サンプル」または「生物学的サンプル」は、いくつかの態様において、真核生物由来などの生物学的起源のものである。いくつかの態様において、サンプルはヒトのサンプルであるが、動物のサンプルも使用することができる。本開示で使用するサンプルの非限定的な供給源としては、例えば、固形組織、生検吸引物、腹水、流体抽出物、血液、血漿、血清、脊髄液、リンパ液、皮膚の外部部分、呼吸器、腸管、泌尿生殖器管、涙、唾液、乳汁、腫瘍、臓器、細胞培養物、及び／または細胞培養成分などが挙げられる。
【０１７８】
「投与すること」とは、当業者に知られているさまざまな方法と送達系のいずれかを用いて、治療薬を含む組成物を対象に物理的に導入することを指す。組み換えα－Ｇａｌ Ａタンパク質、または遺伝子発現α－Ｇａｌ Ａの好ましい投与経路としては、例えば、注射または注入による静脈内投与経路、またはその他の非経口投与経路が挙げられる。「非経口投与」という語句は、本明細書で使用する場合、経腸投与と局所投与以外の、通常は注射による投与方法を意味し、静脈内注射及び注入、筋肉内注射及び注入、動脈内注射及び注入、髄腔内注射及び注入、リンパ内注射及び注入、病巣内注射及び注入、嚢内注射及び注入、眼窩内注射及び注入、心腔内注射及び注入、皮内注射及び注入、腹腔内注射及び注入、経気管注射及び注入、皮下注射及び注入、表皮下注射及び注入、関節内注射及び注入、被膜下注射及び注入、くも膜下注射及び注入、髄腔内注射及び注入、硬膜外注射及び注入、胸骨内注射及び注入、並びにｉｎ ｖｉｖｏエレクトロポレーションが挙げられるが、これらに限定されない。その他の非経口経路には、経口投与経路、局所投与経路、表皮投与経路または粘膜投与経路を含み、例えば、鼻腔内、膣内、直腸内、舌下または局所。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、静脈内投与される。
【０１７９】
また、投与は、例えば１回、複数回及び／または１つ以上の長い期間にわたって行うことができる。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、１用量のみ投与される。
【０１８０】
本明細書で使用される「約１週間に１回」、「約２週間に１回」またはその他の同様の投与間隔に関する用語は、おおよその数を意味する。「約１週間に１回」には、７日±１日ごと、つまり６日～８日ごとが含まれ得る。「約２週間に１回」には、１４日±３日ごと、つまり１１日～１７日ごとが含まれ得る。同様の近似値は、例えば、約３週間に１回、約４週間に１回、約５週間に１回、約６週間に１回、約１２週間に１回に適用される。いくつかの態様において、約６週間に１回または約１２週間に１回の投与間隔は、最初の投与を第１週の任意の日に投与することができ、次の投与をそれぞれ第６週または第１２週の任意の日に投与することができることを意味する。他の態様において、約６週間に１回または約１２週間に１回の投与間隔は、最初の投与が第１週の特定の曜日（例えば、月曜日）に投与され、次の投与がそれぞれ６週目または１２週目の同じ曜日（つまり、月曜日）に投与されることを意味する。
【０１８１】
「本質的に含む」という用語は、当業者によって決定される特定の値または組成物についての許容可能な誤差範囲内である値または組成物を指し、値または組成物を測定する、または決定する方法、すなわち、測定システムの限界に部分的に依存する。例えば、「本質的に含む」は、当該技術分野の慣例に従って、１標準偏差以内または１標準偏差を超えることを意味し得る。あるいは、「本質的に含む」は、最大１０％の範囲を意味し得る。さらには、特に生物学的システムまたはプロセスに関して、用語は、値の最大桁または最大５倍を意味し得る。本出願及び特許請求の範囲に特定の値または組成物が提供される場合、別段に記載されない限り、「本質的に含む」の意味は、特定の値または組成物について許容可能な誤差範囲内にあるとみなされるべきである。
【０１８２】
他に定義されない限り、本明細書中で使用するすべての技術用語及び科学用語は、本開

示が関連する技術分野の当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を有する。例えば、the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology，Juo，Pei－Show，2nd ed.，2002，CRC Press；The Dictionary of Cell and Molecular Biology，3rd ed.，1999，Academic Press；及びthe Oxford Dictionary of Biochemistry And Molecular Biology，Revised，2000，Oxford University Pressは、本開示で使用される多くの用語の一般的な辞書を当業者に提供する。

【０１８３】

単位、接頭辞、記号は、国際単位系（ＳＩ）で認められた形式で示される。数値範囲は、その範囲を定義する数を含むものとする。特に明記しない限り、ヌクレオチド配列は５’から３’の方向で左から右に記述される。アミノ酸配列は、アミノ基からカルボキシ基の方向で左から右に記述される。本明細書において提供される見出しは、明細書全体を参照することによって得られる開示のさまざまな態様を制限するものではない。したがって、直下に定義される用語は、本明細書全体を参照することによってより完全に定義される。

【０１８４】

本明細書に記載されているように、任意の濃度範囲、パーセンテージ範囲、比率範囲または整数範囲は、特に指定のしない限り、列挙される範囲内の任意の整数の値を含み、必要に応じて、その分数（整数の１／１０及び１／１００など）を含むものと理解される。

【０１８５】

本開示のさまざまな態様は、以下のサブセクションでさらに詳細に説明される。

【０１８６】

ＩＩ．　本開示の方法

本明細書では、治療有効量の少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質をコードするα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）導入遺伝子を含む、α－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）発現カセットを含む、発現ベクター（例えば、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）発現ベクター）を投与することにより、ファブリー病の１つ以上の症状を治療または改善すること、スフィンゴ糖脂質の量を減少させること、及び／または、α－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）タンパク質の活性を増加させることを、それを必要とする対象において行うための方法が提供される。

【０１８７】

いくつかの態様において、本開示は、ファブリー病を治療すること、またはファブリー病に関連する１つ以上の症状を改善することを、それを必要とするヒト対象において行う方法を対象としており、本方法は、アルファ１－アンチトリプシン（ｈＡＡＴ）プロモーターに作動可能に連結されたアポリポタンパク質Ｅ（ＡＰＯＥ）エンハンサー、ヒトヘモグロビンベータ（ＨＢＢ）－ＩＧＧイントロン、シグナルペプチドをコードする配列、少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質をコードするα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）導入遺伝子、及びウシ成長ホルモンポリＡシグナル配列を含む、αガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）発現カセットを含む、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）発現ベクターを対象に投与することを含み、ＡＡＶ発現ベクターは、体重１キログラムあたり約５×１０^{12}ベクターゲノム（ｖｇ／ｋｇ）～約５×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与される。

【０１８８】

いくつかの態様において、本開示は、ファブリー病を治療すること、またはファブリー病に関連する１つ以上の症状を改善することを、それを必要とするヒト対象において行う方法を対象としており、本方法は、少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質をコードするα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）導入遺伝子を含む、α－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）発現カセットを含む、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）発現ベクターを対象に投与することを含み、α－Ｇａｌ　Ａ導入遺伝子は、配列番号５に記載のヌク

レオチド配列を含み、ＡＡＶ発現ベクターは、体重１キログラムあたり約５×１０^{12}ベクターゲノム（ｖｇ／ｋｇ）～約５×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与される。

【０１８９】

いくつかの態様において、本開示は、スフィンゴ糖脂質の量を減少させることを、それを必要とするヒト対象において行う方法に関し、本方法は、アルファ１－アンチトリプシン（ｈＡＡＴ）プロモーターに作動可能に連結されたアポリポタンパク質Ｅ（ＡＰＯＥ）エンハンサー、ヒトヘモグロビンベータ（ＨＢＢ）－ＩＧＧイントロン、シグナルペプチドをコードする配列、少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質をコードするα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）導入遺伝子、及び、ウシ成長ホルモンポリＡシグナル配列を含む、αガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）発現カセットを含む、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）発現ベクターを対象に投与することを含み、ＡＡＶ発現ベクターは、体重１キログラムあたり約５×１０^{12}ベクターゲノム（ｖｇ／ｋｇ）～約５×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与され、減少したスフィンゴ糖脂質の量は、投与前の対象におけるスフィンゴ糖脂質の量に対する。

【０１９０】

いくつかの態様において、本開示は、スフィンゴ糖脂質の量を減少させることを、それを必要とするヒト対象において行う方法を対象としており、本方法は、少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質をコードするα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）導入遺伝子を含むα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）発現カセットを含むアデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）発現ベクターを対象に投与することを含み、α－Ｇａｌ　Ａ導入遺伝子は、配列番号５に記載のヌクレオチド配列を含み、ＡＡＶ発現ベクターは、体重１キログラムあたり約５×１０^{12}ベクターゲノム（ｖｇ／ｋｇ）～約５×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与され、減少したスフィンゴ糖脂質の量は、投与前の対象におけるスフィンゴ糖脂質の量に対する。

【０１９１】

いくつかの態様において、本開示は、α－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）タンパク質の活性を増加させることを、それを必要とするヒト対象において行う方法を対象としており、本方法は、アルファ１－アンチトリプシン（ｈＡＡＴ）プロモーターに作動可能に連結されたアポリポタンパク質Ｅ（ＡＰＯＥ）エンハンサー、ヒトヘモグロビンベータ（ＨＢＢ）－ＩＧＧイントロン、シグナルペプチドをコードする配列、少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質をコードするα－Ｇａｌ　Ａ導入遺伝子、及びウシ成長ホルモンポリＡシグナル配列を含む、αガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）発現カセットを含む、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）発現ベクターを対象に投与することを含み、ＡＡＶ発現ベクターは、体重１キログラムあたり約５×１０^{12}ベクターゲノム（ｖｇ／ｋｇ）～約５×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与され、増加したα－Ｇａｌ　Ａタンパク質の活性は、投与前の対象におけるα－Ｇａｌ　Ａタンパク質の活性に対する。

【０１９２】

いくつかの態様において、本開示は、α－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）タンパク質の活性を増加させることを、それを必要とするヒト対象において行う方法を対象としており、本方法は、少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質をコードするα－Ｇａｌ　Ａ導入遺伝子を含むα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）発現カセットを含む、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）発現ベクターを対象に投与することを含み、α－Ｇａｌ　Ａ導入遺伝子は、配列番号５に記載のヌクレオチド配列を含み、ＡＡＶ発現ベクターは、体重１キログラムあたり約５×１０^{12}ベクターゲノム（ｖｇ／ｋｇ）～約５×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与され、増加したα－Ｇａｌ　Ａタンパク質の活性は、投与前の対象におけるα－Ｇａｌ　Ａタンパク質の活性に対する。

【０１９３】

いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約１×１０^{11}ｖｇ／ｋｇ、約２×１０^{11}ｖｇ／ｋｇ、約３×１０^{11}ｖｇ／ｋｇ、約４×１０^{11}ｖｇ／ｋｇ、約５×１０^{11}ｖｇ／ｋｇ、約６×１０^{11}ｖｇ／ｋｇ、約７×１０^{11}ｖｇ／ｋｇ、約

８×１０^{11}ｖｇ／ｋｇ、約９×１０^{11}ｖｇ／ｋｇ、約１×１０^{12}ｖｇ／ｋｇ、約２×１０^{12}ｖｇ／ｋｇ、約３×１０^{12}ｖｇ／ｋｇ、約４×１０^{12}ｖｇ／ｋｇ、約５×１０^{12}ｖｇ／ｋｇ、約６×１０^{12}ｖｇ／ｋｇ、約７×１０^{12}ｖｇ／ｋｇ、約８×１０^{12}ｖｇ／ｋｇ、約９×１０^{12}ｖｇ／ｋｇ、約１×１０^{13}ｖｇ／ｋｇ、約２×１０^{13}ｖｇ／ｋｇ、約３×１０^{13}ｖｇ／ｋｇ、約４×１０^{13}ｖｇ／ｋｇ、約５×１０^{13}ｖｇ／ｋｇ、約６×１０^{13}ｖｇ／ｋｇ、約７×１０^{13}ｖｇ／ｋｇ、約８×１０^{13}ｖｇ／ｋｇ、約９×１０^{13}ｖｇ／ｋｇ、約１×１０^{14}ｖｇ／ｋｇ、約２×１０^{14}ｖｇ／ｋｇ、約３×１０^{14}ｖｇ／ｋｇ、約４×１０^{14}ｖｇ／ｋｇ、約５×１０^{14}ｖｇ／ｋｇ、約６×１０^{14}ｖｇ／ｋｇ、約７×１０^{14}ｖｇ／ｋｇ、約８×１０^{14}ｖｇ／ｋｇ、または約９×１０^{14}ｖｇ／ｋｇの用量で投与される。

【０１９４】

いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約５×１０^{12}ｖｇ／ｋｇの用量で投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約１×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約３×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約５×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの用量で投与される。

【０１９５】

いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約１×１０^{11}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約２×１０^{11}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約３×１０^{11}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約４×１０^{11}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約５×１０^{11}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約６×１０^{11}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約７×１０^{11}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約８×１０^{11}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約９×１０^{11}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約１×１０^{12}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約２×１０^{12}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約３×１０^{12}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約４×１０^{12}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約５×１０^{12}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約６×１０^{12}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約７×１０^{12}ｖｇ／ｋｇ、約８×１０^{12}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約９×１０^{12}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約１×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約２×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約３×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約４×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約５×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約６×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約７×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約８×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態

様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約９×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約１×１０^{14}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約２×１０^{14}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約３×１０^{14}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約４×１０^{14}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約５×１０^{14}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約６×１０^{14}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約７×１０^{14}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約８×１０^{14}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約９×１０^{14}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。

【０１９６】

いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約５×１０^{12}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約１×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約３×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、約５×１０^{13}ｖｇ／ｋｇの１用量のみで投与される。

【０１９７】

いくつかの態様において、本明細書に開示されるＡＡＶ発現ベクターは、投与経路に部分的に依存するさまざまな方法を使用して、対象、例えば、ヒト対象に投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、非経口的に投与される。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、静脈内投与される。いくつかの態様において、本明細書に開示されるＡＡＶ発現ベクターは、静脈内注入によって対象に投与される。

【０１９８】

いくつかの態様において、対象は、ファブリー病に罹患している。いくつかの態様において、対象は、正常値を超えるグロボトリアオシルセラミド（Ｇｂ３）レベル、正常値を超えるグロボトリアオシルスフィンゴシン（ｌｙｓｏ－Ｇｂ３）レベル、腎疾患、心臓病、無汗症、肢端感覚異常、被角血管腫、胃腸（ＧＩ）管の痛み、角膜及び水晶体の混濁、または脳血管疾患のうちの１つ以上のファブリー病に関連した症状を有する。いくつかの態様において、被角血管腫は、臍周囲被角血管腫である。いくつかの態様において、ファブリー病は、１型の古典型表現型、または２型の遅発型表現型である。

【０１９９】

いくつかの態様において、対象は、約５％未満のα－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性を有する。いくつかの態様において、対象は、酵素補充療法（ＥＲＴ）ナイーブ対象である。いくつかの態様において、ＥＲＴナイーブ対象は、ＥＲＴナイーブの古典型ファブリー病男性である。

【０２００】

いくつかの態様において、α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性は、以下の実施例２に記載されているように、対象の血漿スキン及び／または白血球において測定される。

【０２０１】

いくつかの態様において、対象は、男性対象である。いくつかの態様において、対象は、女性対象である。

【０２０２】

いくつかの態様において、対象は、例えば、国際ファブリー病遺伝子型表現型データベース（ｄｂＦＧＰ）などのデータベースにリストされているような、ファブリー病（例えば、古典型ファブリー病）を示すα－Ｇａｌ　Ａ遺伝子変異を有する。いくつかの態様に

おいて、α－Ｇａｌ　Ａ遺伝子変異は、限定されないがアミノ酸変異Ｇ２６１Ｄ、Ｃ４２２Ｔ、Ｗ３４０Ｒ、Ｓ２９７Ｙ、Ｑ２８３Ｘ、Ｄ２１５Ｓ、ＩＶＳ５／ｃ．８０１＋３Ａ＞Ｇ、Ｐ３６２Ｌ、Ｃ４２２Ｔ、またはＮ３４Ｓをもたらし得る。

【０２０３】

いくつかの態様において、対象は、投与前に、酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ）によって決定される、既存の抗α－Ｇａｌ　Ａ抗体を有する。

【０２０４】

本明細書において使用される「既存の抗α－Ｇａｌ　Ａ抗体」という用語は、例えば、ヒト血清中のα－Ｇａｌ　Ａに対する総抗薬物抗体（ＡＤＡ）を指し、ＡＤＡ抗体は、酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ）を使用して検出される。阻害％≧４６．１のサンプルは、α－Ｇａｌ　Ａに対する抗体の存在が陽性であると報告される（「抗α－Ｇａｌ　Ａ抗体陽性」）。

【０２０５】

抗ＧＬＡ中和抗体

ヒト血清中のα－Ｇａｌ　Ａに対する総抗薬物抗体（ＡＤＡ）は、蛍光酵素阻害アッセイにおいてヒト血清中で検出し、滴定する。このアッセイは、α－Ｇａｌ　Ａ活性に対するヒト血清の中和能力を評価することにより、抗α－Ｇａｌ　Ａ中和抗体（ＮＡｂ）の存在を決定する。９．６％のカットオフポイント以上の阻害％を持つサンプルはＮＡｂ陽性と識別され、カットオフポイントを下回るサンプルは陰性とみなされる。

【０２０６】

いくつかの態様において、対象の生物学的サンプルを分析すると、対象は、抗α－Ｇａｌ　Ａ中和抗体陽性対象であり、抗α－Ｇａｌ　Ａ中和抗体陽性対象は、上記の抗α－Ｇａｌ　Ａ中和抗体アッセイによって測定されるα－ガラクトシダーゼＡ活性の阻害が約９．６％を超える生物学的サンプルを有する。

【０２０７】

いくつかの態様において、抗ＧＬＡ中和抗体は、α－Ｇａｌ　Ａ酵素に結合して不活性化（中和）する。いくつかの態様において、抗ＧＬＡ中和抗体が存在する場合、酵素補充療法は、血漿中の抗ＧＬＡ中和抗体によって直接不活性化（中和）される。いくつかの態様において、抗ＧＬＡ中和抗体が存在しない場合、酵素補充療法（例えば、組み換えα－Ｇａｌ　Ａ酵素）は、Ｍ６Ｐ受容体を介して細胞（例えば、内皮細胞）に入り、リソソームからのＧｂ３クリアランスをもたらす。いくつかの態様において、抗ＧＬＡ中和抗体が存在する場合、それらは酵素（例えば、組み換えα－Ｇａｌ　Ａ）に結合することによってＥＲＴ活性を中和することができる。

【０２０８】

いくつかの態様において、抗ＧＬＡ中和ＩｇＧ抗体タグ付きＥＲＴ分子は、マクロファージによって内在化され、消化される。ＥＲＴよりも多くの抗ＧＬＡ中和抗体が存在する場合、これは減少した細胞のＧｂ３クリアランスをもたらし得る。ＥＲＴ用量が抗ＧＬＡ中和抗体価を超える場合、より多くのＥＲＴが標的細胞のリソソームに入り込み、増加したＧｂ３クリアランスをもたらし得る。（Ｌｅｎｄｅｒｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ａｍ　Ｓｏｃ　Ｎｅｐｈｒｏｌ２９：２２６５－２２７８（２０１８）。

【０２０９】

抗ＧＬＡ抗体の中和活性については、例えば、Ｒｏｍｂａｃｈ　ｅｔ　ａｌ．，ＰＬｏＳ　Ｏｎｅ７：ｅ４７８０５（２０１２）；Ｌｅｎｄｅｒｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ａｍ　Ｓｏｃ　Ｎｅｐｈｒｏｌ２７：２５６－２６４（２０１６）；Ｓｍｉｄ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌ　Ｇｅｎｅｔ　Ｍｅｔａｂ１０８：１３２－１３７（２０１３）に記載されている。

【０２１０】

いくつかの態様において、抗ＧＬＡ中和抗体は、ＩｇＧ抗体である。いくつかの態様において、抗ＧＬＡ中和抗体は、ＩｇＧ４抗体である。いくつかの態様において、抗ＧＬＡ中和抗体は、ＩｇＧ２抗体である。いくつかの態様において、抗ＧＬＡ中和抗体は、ＩｇＧ１抗体である。

【０２１１】
いくつかの態様において、抗ＧＬＡ中和抗体は、酵素補充療法の開始後、約１か月以内、約２か月以内、約３か月以内、約４か月以内、約５か月以内、約６か月以内、約７か月以内、約８か月以内、約９か月以内、約１０か月以内、約１１か月以内、または約１２か月以内に発現し得る。
【０２１２】
いくつかの態様において、抗ＧＬＡ中和抗体を発現し得るヒト対象は、例えば、Ｖａｎｄｅｒ Ｖｅｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ Ｇｅｎｅｔ Ｍｅｔａｂ．１２６（２）：１６２－１６８（２０１９）；Ｗｉｌｃｏｘ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ Ｇｅｎｅｔ Ｍｅｔａｂ．１０５（３）：４４３－４４９（２０１２）に記載されているように、例えば、古典型ファブリー病に罹患した男性患者である。
【０２１３】
いくつかの態様において、導入遺伝子から発現されたα－Ｇａｌ Ａタンパク質は、投与前の対象におけるスフィンゴ糖脂質の量と比較して、対象におけるスフィンゴ糖脂質の量を少なくとも約２倍減少させる。
【０２１４】
いくつかの態様において、導入遺伝子から発現されたα－Ｇａｌ Ａタンパク質は、投与前の対象におけるスフィンゴ糖脂質の量と比較して、対象におけるスフィンゴ糖脂質の量を、約１０パーセント（％）、約１１％、約１２％、約１３％、約１４％、約１５％、約１６％、約１７％、約１８％、約１９％、約２０％、約２１％、約２２％、約２３％、約２４％、約２５％、約２６％、約２７％、約２８％、約２９％、約３０％、約３１％、約３２％、約３３％、約３４％、約３５％、約３６％、約３７％、約３８％、約３９％、約４０％、約４１％、約４２％、約４３％、約４４％、約４５％、約４６％、約４７％、約４８％、約４９％、約５０％、約５１％、約５２％、約５３％、約５４％、約５５％、約５６％、約５７％、約５８％、約５９％、約６０％、約６１％、約６２％、約６３％、約６４％、約６５％、約６６％、約６７％、約６８％、約６９％、約７０％、約７１％、約７２％、約７３％、約７４％、約７５％、約７６％、約７７％、約７８％、約７９％、約８０％、約８１％、約８２％、約８３％、約８４％、約８５％、約８６％、約８７％、約８８％、約８９％、約９０％、約９１％、約９２％、約９３％、約９４％、約９５％、約９６％、約９７％、約９８％、約９９％、または約１００％減少させる。
【０２１５】
いくつかの態様において、導入遺伝子から発現されたα－Ｇａｌ Ａタンパク質は、対象におけるスフィンゴ糖脂質の量を投与前と同じレベルに維持する。いくつかの態様において、本明細書に記載の酵素補充療法（ＥＲＴ）前治療の安定用量を受けている対象では、スフィンゴ糖脂質の量は投与前と同じレベルに維持される。「酵素補充療法の安定用量」または「ＥＲＴの安定用量」という用語は、同意前の６か月間、及びレジメン（登録前の少なくとも３か月間は１４日±１日）にＥＲＴの投与を４回以上欠かしていないこととして定義される。いくつかの態様において、ｌｙｓｏ－Ｇｂ３のベースラインレベルが低い対象（例えば、ＥＲＴ治療を受けた対象）は、観察期間中、同じｌｙｓｏ－Ｇｂ３レベルを維持することができる（例えば、ｌｙｓｏ－Ｇｂ３レベルは安定したまま、または統計的に有意ではないわずかな低下を示す）。
【０２１６】
「ＥＲＴ－ナイーブ対象」、「ＥＲＴナイーブ対象」、または「酵素補充療法（ＥＲＴ）ナイーブ対象」という用語は、酵素補充療法（ＥＲＴ）を受けたことがない対象（例えば、ヒト対象）を指す。
【０２１７】
「ＥＲＴ－疑似ナイーブ対象」、「ＥＲＴ疑似－ナイーブ対象」、または「ＥＲＴ疑似ナイーブ対象」という用語は、以前にＥＲＴを受けたことがあるが、本明細書に記載の臨床試験の開始前の過去６か月間にＥＲＴ治療を受けていない対象（例えば、ヒト対象）を指す。

【０２１８】
いくつかの態様において、スフィンゴ糖脂質は、グロボトリアオシルセラミド（Ｇｂ３）、グロボトリアオシルスフィンゴシン（ｌｙｓｏ－Ｇｂ３）、ガラビオシルセラミド、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様において、Ｇｂ３及び／またはｌｙｓｏ－Ｇｂ３レベルは、以下の実施例２で説明するように、対象の血漿及び／または尿中で測定される。いくつかの態様において、Ｇｂ３及び／またはｌｙｓｏ－Ｇｂ３レベルは、対象の組織中で測定される。
【０２１９】
いくつかの態様において、導入遺伝子から発現されるα－Ｇａｌ　Ａタンパク質は、血漿、肝臓、心臓、腎臓、尿、皮膚、または脾臓のうちの１つ以上中のスフィンゴ糖脂質の量を減少させる。
【０２２０】
いくつかの態様において、対象におけるα－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性は、投与前の対象のα－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性と比較して、平均正常α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性よりも約０倍高い～約２倍高い、約２倍高い～約５倍高い、約５倍高い～約１０倍高い、約１０倍高い～約２０倍高い、約２０倍高い～約３０倍高い、約３０倍高い～約４０倍高い、約３０倍高い～約４０倍高い、約４０倍高い～約５０倍高い、約５０倍高い～約６０倍高い、約６０倍高い～約７０倍高い、約７０倍高い～約８０倍高い、約８０倍高い～約９０倍高い、約９０倍高い～約１００倍高い、約１００倍高い～約２００倍高い、約２００倍高い～約３００倍高い、約３００倍高い～約４００倍高い、約４００倍高い～約５００倍高い。
【０２２１】
いくつかの態様において、対象におけるα－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性は、投与前の対象のα－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性と比較して、平均正常α－Ｇａｌ　Ａタンパク質活性よりも約０倍高い～約２倍高い、約２倍高い、約３倍高い、約４倍高い、約５倍高い、約６倍高い、約７倍高い、約８倍高い、約９倍高い、約１０倍高い、約１１倍高い、約１２倍高い、約１３倍高い、約１４倍高い、約１５倍高い、約１６倍高い、約１７倍高い、約１８倍高い、約１９倍高い、約２０倍高い、約２１倍高い、約２２倍高い、約２３倍高い、約２４倍高い、約２５倍高い、約２６倍高い、約２７倍高い、約２８倍高い、約２９倍高い、約３０倍高い、約３１倍高い、約３２倍高い、約３３倍高い、約３４倍高い、約３５倍高い、約３６倍高い、約３７倍高い、約３８倍高い、約３９倍高い、約４０倍高い、約４１倍高い、約４２倍高い、約４３倍高い、約４４倍高い、約４５倍高い、約４６倍高い、約４７倍高い、約４８倍高い、約４９倍高い、約５０倍高い、約５１倍高い、約５２倍高い、約５３倍高い、約５４倍高い、約５５倍高い、約５６倍高い、約５７倍高い、約５８倍高い、約５９倍高い、約６０倍高い、約６１倍高い、約６２倍高い、約６３倍高い、約６４倍高い、約６５倍高い、約６６倍高い、約６７倍高い、約６８倍高い、約６９倍高い、約７０倍高い、約７１倍高い、約７２倍高い、約７３倍高い、約７４倍高い、約７５倍高い、約７６倍高い、約７７倍高い、約７８倍高い、約７９倍高い、約８０倍高い、約８１倍高い、約８２倍高い、約８３倍高い、約８４倍高い、約８５倍高い、約８６倍高い、約８７倍高い、約８８倍高い、約８９倍高い、約９０倍高い、約９１倍高い、約９２倍高い、約９３倍高い、約９４倍高い、約９５倍高い、約９６倍高い、約９７倍高い、約９８倍高い、約９９倍高い、または約１００倍高い。
【０２２２】
いくつかの態様において、導入遺伝子から発現されるα－Ｇａｌ　Ａタンパク質のレベルは、対象の血漿、血清、全血、乾燥血液スポット、白血球、またはその他の血液成分の１つ以上で測定される。いくつかの態様において、導入遺伝子から発現されるα－Ｇａｌ　Ａタンパク質は、対象の腎臓、肝臓、皮膚、及び心臓で活性である。
【０２２３】
いくつかの態様において、少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質の発現は、少なくとも３か月、少なくとも４か月、少なくとも５か月、少なくとも６か月、少なくとも７

か月、少なくとも８か月、少なくとも９か月、少なくとも１０か月、少なくとも１１か月、少なくとも１２か月、少なくとも１３か月、少なくとも１４か月、少なくとも１５か月、少なくとも１６か月、少なくとも１７か月、少なくとも１８か月、少なくとも１９か月、少なくとも２０か月、少なくとも２１か月、少なくとも２２か月、少なくとも２３か月、または少なくとも２４か月持続される。

【０２２４】

いくつかの態様において、対象には、ＡＡＶ発現ベクターの投与前及び／または投与中に免疫抑制剤（例えば、予防ステロイド治療）が投与される。いくつかの態様において、免疫抑制剤は、プレドニゾンを含む。

【０２２５】

いくつかの態様において、対象には、ＡＡＶ発現ベクターの投与前及び／または投与中に免疫抑制剤が投与されない。

【０２２６】

いくつかの態様において、対象には、ＡＡＶ発現ベクターの投与前にプレコンディショニング療法（例えばコンディショニング剤）が施行されない。本明細書で使用される「プレコンディション」または「プレコンディショニング」という用語は、例えば、ブスルファン（Ｍｙｌｅｒａｎ（登録商標）、ＧｌａｘｏＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅ，Ｂｕｓｕｌｆｅｘ（登録商標）、Ｏｔｓｕｋａ Ａｍｅｒｉｃａ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ，Ｉｎｃ．）などの化学療法コンディショニング剤を使用することを指す。コンディショニング剤は、例えば、患者の骨髄内にスペースを作るために骨髄細胞を枯渇／死滅させるｅｘｖｉｖｏレンチウイルス遺伝子療法に使用することができる。患者が遺伝子療法を受けると、治療用幹細胞が骨髄に生着し、治療遺伝子を含む細胞を生成することが期待される。コンディショニング剤は化学療法に伴う副作用（例えば、生殖能力への深刻な影響）を引き起こす可能性がある。

【０２２７】

いくつかの態様において、対象には、ＡＡＶ発現ベクターの投与前及び／または投与中にコンディショニング剤または免疫抑制剤（例えば、予防ステロイド治療）が投与されない。

【０２２８】

いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクター及び医薬組成物は、隔週の酵素補充療法（ＥＲＴ）注入の必要性を排除する。

【０２２９】

いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクター及び医薬組成物は、ファブリー病に罹患した対象における腎機能を維持することができる。いくつかの態様において、投与後、対象において、慢性腎臓病疫学協力（ＣＫＤ－ＥＰＩ）方程式を使用して推算糸球体濾過量（ｅＧＦＲ）（ｍｌ／分／１．７３ｍ^{2}単位）が測定される。（例えば、Ｒｏｍｂａｃｈ ＳＭ ｅｔ ａｌ．，Ｎｅｐｈｒｏｌ Ｄｉａｌ Ｔｒａｎｓｐｌａｎｔ．２５（８）：２５４９－２５５６（２０１０）を参照のこと）。いくつかの態様において、年間ｅＧＦＲ低下率は、同等のファブリー病に罹患した未治療の対象よりも低い。

【０２３０】

いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクター及び医薬組成物は、ファブリー病に罹患した対象における心疾患を減少することができる。いくつかの態様において、投与後、対象において、一回拍出量（ＳＶ）／左室拡張末期容積（ＬＶＥＤＶ）として駆出率（ＥＦ）が測定される。（例えば、Ｐｉｅｒｏｎｉ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｔｈｅ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｃｏｌｌｅｇｅ ｏｆ Ｃａｒｄｉｏｌｏｇｙ，７７（７）：９２２－９３６（２０２１）；Ｌｉｎｈａｒｔ Ａ．Ｔｈｅ ｈｅａｒｔ ｉｎ Ｆａｂｒｙ ｄｉｓｅａｓｅ．Ｉｎ：Ｍｅｈｔａ Ａ，Ｂｅｃｋ Ｍ，Ｓｕｎｄｅｒ－Ｐｌａｓｓｍａｎｎ Ｇ，ｅｄｉｔｏｒｓ．Ｆａｂｒｙ Ｄｉｓｅａｓｅ：Ｐｅｒｓｐｅｃｔｉｖｅｓ ｆｒｏｍ ５ Ｙｅａｒｓ ｏｆ ＦＯＳ．Ｏｘｆｏｒｄ：Ｏｘｆｏｒｄ ＰｈａｒｍａＧｅｎｅｓｉｓ；２００６．Ｃｈａｐｔｅｒ２０を参照のこと）。いくつか

の態様において、年間ＥＦ低下率は、同等のファブリー病に罹患した未治療の対象よりも低い。

【０２３１】

いくつかの態様において、投与後、対象において、２Ｄひずみ心エコー検査または心臓磁気共鳴画像法（心臓ＭＲＩまたはＣＭＲ）によって全体縦方向ひずみ（ＧＬＳ）が測定される。（例えば、Ｐｉｅｒｏｎｉ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｔｈｅ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｃｏｌｌｅｇｅ ｏｆ Ｃａｒｄｉｏｌｏｇｙ，７７（７）：９２２－９３６（２０２１）を参照のこと）。いくつかの態様において、心臓の筋肉の収縮性の年間短縮化進行は、同等のファブリー病に罹患した未治療の対象よりも低い。

【０２３２】

いくつかの態様において、投与後、対象において、左室質量（ＬＶＭ）／体表面積としての左室質量指数（ＬＶＭＩ）が測定される。（例えば、Ｐｉｅｒｏｎｉ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｔｈｅ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｃｏｌｌｅｇｅ ｏｆ Ｃａｒｄｉｏｌｏｇｙ，７７（７）：９２２－９３６（２０２１）を参照のこと）。いくつかの態様において、年間ＬＶＭＩ増加は、同等のファブリー病に罹患した未治療の対象よりも低い。

【０２３３】

いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクター及び医薬組成物は、ファブリー病に罹患した対象における１つ以上の聴覚症状を改善することができる。いくつかの態様において、投与後、対象における１つ以上の聴覚症状が改善される。いくつかの態様において、１つ以上の聴覚症状は、耳鳴り、めまい、または進行性の難聴である。

【０２３４】

いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクター及び医薬組成物は、ファブリー病に罹患した対象における発汗を改善することができる。いくつかの態様において、対象の発汗レベルは、無汗症から低汗症または正常発汗へと好転し得る。

【０２３５】

ＩＩＩ．アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）発現ベクター

ディペンドウイルス属に属するパルボウイルスであるＡＡＶは、他のウイルスには見られない魅力的な特徴をいくつか有する。例えば、ＡＡＶは、分裂していない細胞を含む広範囲の宿主細胞に感染することができる。さらに、ＡＡＶは、さまざまな種からの細胞に感染することができる。重要なのは、ＡＡＶはヒトまたは動物のいかなる病気とも関連付けられておらず、組み込まれた際に宿主細胞の生理学的特性を変化させるとは思われていない。最後に、ＡＡＶは広範囲の物理的及び化学的条件で安定であり、製造、保管、輸送の要件に適している。

【０２３６】

ＡＡＶゲノムは、約４７００ヌクレオチド（ＡＡＶ－２ゲノムは４６８１ヌクレオチドからなる）を含む線状の一本鎖ＤＮＡ分子であり、通常、逆位末端反復配列（ＩＴＲ）と各末端で隣接する内部非反復セグメントを含む。ＩＴＲの長さは約１４５ヌクレオチド（ＡＡＶ－１は１４３ヌクレオチドのＩＴＲを有する）で、複製起点として、またウイルスゲノムのパッケージングシグナルとして機能するなど、複数の機能を有する。

【０２３７】

ゲノムの内部の非反復部分は、ＡＡＶ複製（ｒｅｐ）領域とカプシド（ｃａｐ）領域で知られる２つの大きなオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）を含む。これらのＯＲＦは複製及びカプシド遺伝子産物をそれぞれコード、複製及びカプシド遺伝子産物（つまり、タンパク質）により、完全なＡＡＶビリオンの複製、組み立て、及びパッケージングが可能になる。より具体的には、ＡＡＶｒｅｐ領域から少なくとも４つのウイルスタンパク質ファミリー：Ｒｅｐ７８、Ｒｅｐ６８、Ｒｅｐ５２、及びＲｅｐ４０が発現され、これらはすべて見かけの分子量に基づいて名前が付けられている。ＡＡＶキャップ領域は、少なくとも３つのタンパク質：ＶＰ１、ＶＰ２、及びＶＰ３をコードする。

【０２３８】

ＡＡＶはヘルパー依存性ウイルスであり、機能的に完全なＡＡＶビリオンを形成するためには、ヘルパーウイルス（例えば、アデノウイルス、ヘルペスウイルス、またはワクシニアウイルス）との共感染を必要とする。ヘルパーウイルスとの共感染がない場合、ＡＡＶは潜伏状態を確立し、ウイルスゲノムは宿主細胞の染色体に挿入されるか、エピソームの形で存在するが、感染性ビリオンは生成されない。その後のヘルパーウイルスによる感染により、組み込まれたゲノムが「救出」され、複製されてウイルスカプシドにパッケージ化され、感染性ウイルス粒子が再構成されることを可能にする。ＡＡＶは異なる種からの細胞に感染することができるが、ヘルパーウイルスは宿主細胞と同じ種である必要がある。したがって、例えば、ヒトＡＡＶは、イヌアデノウイルスに共感染したイヌ細胞内で複製される。

【０２３９】

ＨＮＡを含む組み換えＡＡＶ（ｒＡＡＶ）ビリオンを生成するために、好適な宿主細胞株に、ＨＮＡを含むが、ｒｅｐ及びｃａｐを欠くＡＡＶベクターをトランスフェクトする。次に、宿主細胞に野生型（ｗｔ）ＡＡＶ及び好適なヘルパーウイルスを感染させてｒＡＡＶビリオンを形成する。あるいは、ｗｔＡＡＶ遺伝子（ヘルパー機能遺伝子として知られ、ｒｅｐ及びｃａｐを含む）とヘルパーウイルス機能遺伝子（アクセサリ機能遺伝子として知られる）を、１つ以上のプラスミドで提供することができ、それによってｒＡＡＶビリオンの生成においてｗｔＡＡＶ及びヘルパーウイルスの必要性がなくなる。ヘルパー機能遺伝子産物及び補助機能遺伝子産物は、宿主細胞内で発現され、異種遺伝子を含むｒＡＡＶベクター上でトランスに作用する。その後、異種遺伝子は、ｗｔＡＡＶゲノムであるかのように複製され、パッケージングされ、組み換えＡＡＶビリオンが形成される。患者の細胞が得られたｒＡＡＶビリオンで形質導入されると、ＨＮＡが患者の細胞内に入り、発現する。患者の細胞にはｒｅｐ遺伝子及びｃａｐ遺伝子の他に、補助機能遺伝子も欠如しているため、ｒＡＡＶビリオンはそのゲノムをさらに複製してパッケージングすることができない。さらに、ｒｅｐ遺伝子及びｃａｐ遺伝子の供給源がなければ、ｗｔＡＡＶビリオン、患者の細胞内で形成することができない。例えば米国特許出願公開第２００３／０１４７８５３号を参照のこと。

【０２４０】

いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、任意の天然または組み換えＡＡＶ血清型を含むか、またはそれらに由来し得る。本開示によれば、ＡＡＶ血清型は、ＡＡＶ１、ＡＡＶ２、ＡＡＶ３、ＡＡＶ４、ＡＡＶ５、ＡＡＶ６、ＡＡＶ７、ＡＡＶ８、ＡＡＶｒｈ８、ＡＡＶ９、ＡＡＶ１０、ＡＡＶｒｈ１０、ＡＡＶ１１、ＡＡＶ１２、及びＡＡＶ２／６であり得るが、これらに限定されない。いくつかの態様において、ＡＡＶ血清型は、ＡＡＶ２／６である。いくつかの態様において、ＡＡＶ血清型は、ＡＡＶ２である。いくつかの態様において、ＡＡＶ血清型は、ＡＡＶ６である。

【０２４１】

本開示のＡＡＶ発現ベクターは、任意のプロモーター、エンハンサー、イントロン、シグナルペプチド、ＧＬＡコード、ポリＡ配列、またはウッドチャック肝炎ウイルス（ＷＨＶ）転写後調節要素（ＷＰＲＥ）配列を含み得る、発現カセットを含み得る。いくつかの態様において、エンハンサー及び／またはプロモーターは肝臓特異的であり、例えば、ヒトアポリポタンパク質Ｅ（ＡＰＯＥ）エンハンサー及びヒトアルファ１－アンチトリプシン（ｈＡＡＴ）プロモーターから構成される（Ｍｉａｏ　ＣＨ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｔｈｅｒ．１（６）：５２２－５３２（２０００））。いくつかの態様において、肝臓特異的プロモーターは、１つ以上のＡｐｏＥエンハンサー配列を含む（例えば、１、２、３及び／または４；Ｏｋｕｙａｍａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｈｕｍ　Ｇｅｎ　Ｔｈｅｒ７（５）：６３７－６４５（１９９６）を参照のこと）。いくつか態様において、プロモーターは、イントロンに連結している。いくつかの態様において、イントロンは、ヒトβグロビン遺伝子の第１のイントロンからの５’ドナー部位と、免疫グロブリン遺伝子重鎖可変領域のイントロンからの分岐及び３’アクセプター部位とを含むヒトヘモグロビンベータ（ＨＢＢ）－ＩＧＧキメライントロンである。いくつかの態様において、ＡｐｏＥ／ｈＡＡＴプ

ロモーターは、意図された標的組織である肝細胞において特異的かつ高度に活性であるが、非肝臓細胞及び組織型においては不活性であり、これにより、非標的組織における発現及び活性が低減または防止される。いくつかの態様において、シグナルペプチドは、α－Ｇａｌ　Ａシグナルペプチド（例えば、ヒトα－Ｇａｌ　Ａシグナルペプチド）を含み、ポリアデニル化シグナルは、ウシ成長ホルモン（ｂＧＨ）ポリＡシグナル配列を含む。ＷＰＲＥ配列は、任意の野生型または変異ＷＰＲＥ配列であり得る。例えば、米国特許第１０，１７９，９１８号を参照のこと。いくつかの態様において、ＷＰＲＥ配列は、ｍｕｔ６ＷＰＲＥ配列などの変異したＷＰＲＥを含む。

【０２４２】

いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、２つのＩＴＲと隣接するα－Ｇａｌ　Ａ発現カセットを含む。これら２つのＩＴＲは、α－Ｇａｌ　Ａ発現カセットの５’末端と３’末端にある。

【０２４３】

いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質をコードするα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）導入遺伝子を含む、α－Ｇａｌ　Ａ発現カセットを含む。いくつかの態様において、α－Ｇａｌ　Ａ導入遺伝子は、機能するα－Ｇａｌ　Ａ遺伝子の野生型配列を含む。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクターは、修正α－Ｇａｌ　Ａ導入遺伝子を含む。修正α－Ｇａｌ　Ａ導入遺伝子の配列は、生物学的活性を高めるために何らかの方法で変更される（例えば、生物学的活性を高めるために最適化されたコドン、及び／または遺伝子発現を改善するための転写及び翻訳調節配列の変更）。いくつかの態様において、α－Ｇａｌ　Ａ遺伝子は、発現特性を改善するために改変される。このような改変には、翻訳開始部位（例えば、メチオニン）の挿入、最適化されたコザック配列の追加、シグナルペプチドの挿入、及び／またはコドンの最適化が挙げられるが、これらに限定されない。

【０２４４】

いくつかの態様において、本明細書に記載のＡＡＶ発現ベクターは、ＡＡＶ－００１であり、これは国際公開第ＷＯ／２０２０／１４２７５２号（その全体が参照により本明細書に組み込まれる）では変種＃２１とも称される。

【０２４５】

本開示のｒＡＡＶベクター（例えば、ＡＡＶ－００１ｒＡＡＶベクター）は、ｈＧＬＡ導入遺伝子の発現を促進する肝臓特異的調節要素を含むヒトα－Ｇａｌ　Ａ（ｈＧＬＡ）発現カセット（３３２１ｂｐ）を含む（図１を参照）。ｈＧＬＡ導入遺伝子は、ヒトアポリポタンパク質Ｅ（ＡｐｏＥ）遺伝子のエンハンサー及び肝臓制御領域、ならびにヒトα－１－アンチトリプシン（ｈＡＡＴ）プロモーターによって制御されている。改変キメライントロン（ＨＢＢ－ＩｇｈＧＬＡ導入遺伝子）は、天然ｈＧＬＡタンパク質と同じアミノ酸配列を持つコドン最適化ｈＧＬＡα－Ｇａｌ　Ａ酵素と、承認された組み換えα－Ｇａｌ　Ａ（Ｆａｂｒａｚｙｍｅ（登録商法））を含む。

【０２４６】

本開示のα－Ｇａｌ　Ａ発現カセットには、ウッドチャック肝炎ウイルス（ＷＨＶ）転写後調節要素（ＷＰＲＥｍｕｔ６）の変異型が含まれている。ＷＰＲＥｍｕｔ６は、ＷＨＶＸタンパク質のプロモーター領域とそれに続くＸタンパク質自体の短縮形（ＷＰＲＥ，Ｚｕｆｆｅｒｅｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ｖｉｒｏｌ．７３（４）：２８８６－２８９２（１９９９））を含む５９２－ｂｐのＤＮＡ配列であり、推定プロモーター領域とＸタンパク質オープンリーディングフレームの開始コドンに点変異があり、Ｘタンパク質の発現を防止する（ｍｕｔ６，Ｚａｎｔａ－Ｂｏｕｓｓｉｆ　ｅｔ　ａｌ．，Ｇｅｎｅ　Ｔｈｅｒａｐｙ　１６（５）：６０５－６１９（２００９））。ポリＡ配列は、ウシ成長ホルモンのポリアデニル化シグナルの誘導体である。ＷＰＲＥｍｕｔ６要素の追加により、α－Ｇａｌ　Ａタンパク質の生産が増加した。実際、ＡＡＶ－００１ＰＣ（ＷＰＲＥｍｕｔ６要素を欠く）と比較して、ＡＡＶ－００１の効力はより高い。ＡＡＶ－００１ｒＡＡＶベクターは、ＡＡＶ２由来のＩＴＲと両端で隣接するα－Ｇａｌ　Ａ発現カセットを含み、α

－Ｇａｌ　Ａ発現カセットは、Ｓｆ９昆虫細胞／組み換えバキュロウイルス（Ｓｆ９／ｒＢＶ）発現系を使用して、アデノ随伴ウイルス６型（ＡＡＶ６）由来のカプシドとともにパッケージングされている。

【０２４７】

いくつかの態様において、ＡＡＶ発現ベクター（例えば、ＡＡＶ－００１ｒＡＡＶベクター）配列は、以下の表１に示すように、α－Ｇａｌ　Ａ発現カセットの要素及び配列を含む。

表１：α－Ｇａｌ　ＡｃＤＮＡ要素及び完全な配列

【表１】

要素	位置	配列番号	配列
5'ITR	1-130	1	ctgcgcgctc gctcgctcac tgaggccgcc cgggcaaagc ccgggcgtcg ggcgaccttt ggtcgcccgg cctcagtgag cgagcgagcg cgcagagagg gagtggccaa ctccatcact aggggttcct
ApoEエンハンサー	141-461	2	AGGCTCAGAGGCACACAGGAGTTTCTGGGCTCACCCT GCCCCCTTCCAACCCCTCAGTTCCCATCCTCCAGCAGC TGTTTGTGTGCTGCCTCTGAAGTCCACACTGAACAAA CTTCAGCCTACTCATGTCCCTAAAATGGGCAAACATT GCAAGCAGCAAACAGCAAACACACAGCCCTCCCTGC CTGCTGACCTTGGAGCTGGGGCAGAGGTCAGAGACCT CTCTGGGCCCATGCCACCTCCAACATCCACTCGACCC CTTGGAATTTCGGTGGAGAGGAGCAGAGGTTGTCCTG GCGTGGTTTAGGTAGTGTGAGAGGG
hAATプロモーター	471-863	3	gatcttgcta ccagtggaac agccactaag gattctgcag tgagagcaga gggccagcta agtggtactc tcccagagac tgtctgactc acgccacccc ctccaccttg gacacaggac gctgtggttt ctgagccagg tacaatgact cctttcggta agtgcagtgg aagctgtaca ctgcccaggc aaagcgtccg ggcagcgtag gcgggcgact cagatcccag ccagtggact tagcccctgt ttgctcctcc gataactggg gtgaccttgg ttaatattca ccagcagcct ccccccgttgc ccctctggat ccactgctta aatacggacg aggacagggc cctgtctcct cagcttcagg caccaccact gacctgggac agt
HBB-IgGキメライントロン	867-999	4	gtaagtatca aggttacaag acaggtttaa ggagaccaat agaaactggg cttgtcgaga cagagaagac tcttgcgttt ctgataggca cctattggtc ttactgacat ccactttgcc tttctctcca cag
GLA cDNA	1052-2341	5	ATGCAACTTAGGAACCCCGAACTTCATCTTGGCTGCG CCCTGGCCCTCCGCTTCCTCGCTCTCGTTTCTTGGGAC ATCCCTGGCGCTAGGGCACTCGACAACGGCCTCGCGC GGACTCCTACGATGGGATGGTTGCACTGGGAAAGGTT TATGTGCAATCTGGATTGCCAGGAGGAGCCGGACTCA TGCATCTCGGAGAAGCTGTTCATGGAGATGGCGGAAC TTATGGTATCGGAGGGATGGAAGGATGCCGGGTATG AGTATCTCTGTATCGACGATTGTTGGATGGCTCCCCA GAGAGACTCCGAGGGACGACTCCAAGCGGACCCCCA GCGCTTTCCACATGGCATTCGACAGCTCGCCAATTAC GTGCACTCGAAGGGGTTGAAGTTGGGAATCTACGCAG ATGTGGGCAACAAAACGTGTGCGGGGTTCCCGGGGTC GTTTGGATACTACGATATTGATGCGCAGACGTTTGCT

			GACTGGGGTGTCGATCTTTTGAAATTTGATGGCTGTT ACTGTGATTCGTTGGAAAACCTGGCGGATGGATACAA GCATATGTCACTCGCCTTGAACCGGACAGGTCGCTCA ATCGTATACAGCTGCGAATGGCCCCTCTATATGTGGC CCTTCCAAAAGCCCAATTACACAGAGATTCGGCAGTA TTGCAATCACTGGAGGAACTTTGCCGATATTGACGAC AGCTGGAAATCCATCAAGTCCATTCTCGATTGGACGA GCTTCAACCAGGAGCGCATCGTGGACGTGGCAGGAC CCGGAGGTTGGAACGATCCGGACATGCTCGTAATTGG GAATTTCGGGCTTAGCTGGAATCAGCAAGTCACCCAA ATGGCGCTGTGGGCCATCATGGCAGCTCCTCTCTTTAT GTCGAATGATCTGCGGCATATCTCGCCCCAGGCAAAG GCTCTTTTGCAAGACAAGGACGTCATCGCAATCAATC AGGACCCATTGGGGAAACAGGGATATCAACTTCGCC AGGGTGACAATTTCGAAGTATGGGAGAGGCCGCTTA GCGGGCTGGCGTGGGCGGTCGCGATGATTAACCGGC AGGAAATCGGAGGGCCTCGCTCGTATACCATCGCAGT GGCCTCACTGGGCAAAGGAGTGGCGTGCAATCCGGC CTGCTTCATCACCCAGTTGTTGCCCGTCAAAAGAAAG CTGGGTTTCTACGAGTGGACATCCAGACTTAGATCAC ACATTAACCCTACTGGTACGGTGTTGCTCCAGCTCGA AAACACAATGCAGATGTCGTTGAAAGACCTGCTGTAA
WPRE mut6 J04515	2364-2955	6	aatcaacctc tggattacaa aatttgtgaa agattgactg gtattcttaa ctatgttgct ccttttacgc tatgtggata cgctgcttta atgcctttgt atcatgctat tgcttcccgt atggctttca ttttctcctc cttgtataaa tcctggttgc tgtctcttta tgaggagttg tggcccgttg tcaggcaacg tggcgtggtg tgcactgtgt ttgctgacgc aacccccact ggttggggca ttgccaccac ctgtcagctc ctttccggga ctttcgcttt cccctcccct attgccacgg cggaactcat cgccgcctgc cttgcccgct gctggacagg ggctcggctg ttgggcactg acaattccgt ggtgttgtcg gggaaatcat cgtccttttcc ttggctgctc gcctgtgttg ccacctggat tctgcgcggg acgtccttct gctacgtccc ttcggccctc aatccagcgg accttccttc ccgcggcctg ctgccggctc tgcggcctct tcccgcgtctt cgccttcgcc ctcagacgag tcggatctcc ctttgggccg cctccccgcc tg
bGH ポリA	2962-3186	7	ctgtgccttc tagttgccag ccatctgttg tttgcccctc ccccgtgcct tccttgaccc tggaaggtgc cactcccact gtcctttcct aataaaatga ggaaattgca tcgcattgtc tgagtaggtg tcattctatt ctgggggggtg gggtggggca ggacagcaag ggggaggatt gggaagacaa tagcaggcat gctggggatg cggtgggctc tatgg
3'ITR	3214-3321	8	aggaacccct agtgatggag ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgcccgggc tttgcccggg cggcctcagt gagcgagcga gcgcgcag

配列番号９（完全な導入遺伝子配列）

【表２】

```
CTGCGCGCTC GCTCGCTCAC TGAGGCCGCC CGGGCAAAGC CCGGGCGTCG    50
GGCGACCTTT GGTCGCCCGG CCTCAGTGAG CGAGCGAGCG CGCAGAGAGG   100
GAGTGGCCAA CTCCATCACT AGGGGTTCCT GCGGCCTAGT AGGCTCAGAG   150
GCACACAGGA GTTTCTGGGC TCACCCTGCC CCCTTCCAAC CCCTCAGTTC   200
CCATCCTCCA GCAGCTGTTT GTGTGCTGCC TCTGAAGTCC ACACTGAACA   250
AACTTCAGCC TACTCATGTC CCTAAAATGG GCAAACATTG CAAGCAGCAA   300
ACAGCAAACA CACAGCCCTC CCTGCCTGCT GACCTTGGAG CTGGGGCAGA   350
GGTCAGAGAC CTCTCTGGGC CCATGCCACC TCCAACATCC ACTCGACCCC   400
TTGGAATTTC GGTGGAGAGG AGCAGAGGTT GTCCTGGCGT GGTTTAGGTA   450
GTGTGAGAGG GGTACCCGGG GATCTTGCTA CCAGTGGAAC AGCCACTAAG   500
GATTCTGCAG TGAGAGCAGA GGGCCAGCTA AGTGGTACTC TCCCAGAGAC   550
TGTCTGACTC ACGCCACCCC CTCCACCTTG GACACAGGAC GCTGTGGTTT   600
CTGAGCCAGG TACAATGACT CCTTTCGGTA AGTGCAGTGG AAGCTGTACA   650
CTGCCCAGGC AAAGCGTCCG GGCAGCGTAG GCGGGCGACT CAGATCCCAG   700
CCAGTGGACT TAGCCCCTGT TTGCTCCTCC GATAACTGGG GTGACCTTGG   750
TTAATATTCA CCAGCAGCCT CCCCCGTTGC CCCTCTGGAT CCACTGCTTA   800
AATACGGACG AGGACAGGGC CCTGTCTCCT CAGCTTCAGG CACCACCACT   850
GACCTGGGAC AGTCAGGTAA GTATCAAGGT TACAAGACAG GTTTAAGGAG   900
ACCAATAGAA ACTGGGCTTG TCGAGACAGA GAAGACTCTT GCGTTTCTGA   950
TAGGCACCTA TTGGTCTTAC TGACATCCAC TTTGCCTTTC TCTCCACAGG  1000
CAATTGATCC CCCTGATCTG CGGCCTCGAC GGTATCGATA AGCTTGCCAC  1050
CATGCAACTT AGGAACCCCG AACTTCATCT TGGCTGCGCC CTGGCCCTCC  1100
GCTTCCTCGC TCTCGTTTCT TGGGACATCC CTGGCGCTAG GGCACTCGAC  1150
AACGGCCTCG CGCGGACTCC TACGATGGGA TGGTTGCACT GGGAAAGGTT  1200
TATGTGCAAT CTGGATTGCC AGGAGGAGCC GGACTCATGC ATCTCGGAGA  1250
AGCTGTTCAT GGAGATGGCG GAACTTATGG TATCGGAGGG ATGGAAGGAT  1300
GCCGGGTATG AGTATCTCTG TATCGACGAT TGTTGGATGG CTCCCCAGAG  1350
AGACTCCGAG GGACGACTCC AAGCGGACCC CCAGCGCTTT CCACATGGCA  1400
TTCGACAGCT CGCCAATTAC GTGCACTCGA AGGGGTTGAA GTTGGGAATC  1450
TACGCAGATG TGGGCAACAA AACGTGTGCG GGGTTCCCGG GGTCGTTTGG  1500
ATACTACGAT ATTGATGCGC AGACGTTTGC TGACTGGGGT GTCGATCTTT  1550
TGAAATTTGA TGGCTGTTAC TGTGATTCGT TGGAAAACCT GGCGGATGGA  1600
TACAAGCATA TGTCACTCGC CTTGAACCGG ACAGGTCGCT CAATCGTATA  1650
CAGCTGCGAA TGGCCCCTCT ATATGTGGCC CTTCCAAAAG CCCAATTACA  1700
CAGAGATTCG GCAGTATTGC AATCACTGGA GGAACTTTGC CGATATTGAC  1750
GACAGCTGGA AATCCATCAA GTCCATTCTC GATTGGACGA GCTTCAACCA  1800
GGAGCGCATC GTGGACGTGG CAGGACCCGG AGGTTGGAAC GATCCGGACA  1850
TGCTCGTAAT TGGGAATTTC GGGCTTAGCT GGAATCAGCA AGTCACCCAA  1900
ATGGCGCTGT GGGCCATCAT GGCAGCTCCT CTCTTTATGT CGAATGATCT  1950
GCGGCATATC TCGCCCCAGG CAAAGGCTCT TTTGCAAGAC AAGGACGTCA  2000
TCGCAATCAA TCAGGACCCA TTGGGGAAAC AGGGATATCA ACTTCGCCAG  2050
GGTGACAATT TCGAAGTATG GGAGAGGCCG CTTAGCGGGC TGGCGTGGGC  2100
GGTCGCGATG ATTAACCGGC AGGAAATCGG AGGGCCTCGC TCGTATACCA  2150
TCGCAGTGGC CTCACTGGGC AAAGGAGTGG CGTGCAATCC GGCCTGCTTC  2200
ATCACCCAGT TGTTGCCCGT CAAAAGAAAG CTGGGTTTCT ACGAGTGGAC  2250
ATCCAGACTT AGATCACACA TTAACCCTAC TGGTACGGTG TTGCTCCAGC  2300
TCGAAAACAC AATGCAGATG TCGTTGAAAG ACCTGCTGTA ATCTAGAGGA  2350
TCTCGAGAGA TCTAATCAAC CTCTGGATTA CAAAATTTGT GAAAGATTGA  2400
CTGGTATTCT TAACTATGTT GCTCCTTTTA CGCTATGTGG ATACGCTGCT  2450
TTAATGCCTT TGTATCATGC TATTGCTTCC CGTATGGCTT TCATTTTCTC  2500
CTCCTTGTAT AAATCCTGGT TGCTGTCTCT TTATGAGGAG TTGTGGCCCG  2550
TTGTCAGGCA ACGTGGCGTG GTGTGCACTG TGTTTGCTGA CGCAACCCCC  2600
ACTGGTTGGG GCATTGCCAC CACCTGTCAG CTCCTTTCCG GGACTTTCGC  2650
TTTCCCCCTC CCTATTGCCA CGGCGGAACT CATCGCCGCC TGCCTTGCCC  2700
GCTGCTGGAC AGGGGCTCGG CTGTTGGGCA CTGACAATTC CGTGGTGTTG  2750
TCGGGGAAAT CATCGTCCTT TCCTTGGCTG CTCGCCTGTG TTGCCACCTG  2800
GATTCTGCGC GGGACGTCCT TCTGCTACGT CCCTTCGGCC CTCAATCCAG  2850

CGGACCTTCC TTCCCGCGGC CTGCTGCCGG CTCTGCGGCC TCTTCCGCGT  2900
CTTCGCCTTC GCCCTCAGAC GAGTCGGATC TCCCTTTGGG CCGCCTCCCC  2950
GCCTGGGATC TCTGTGCCTT CTAGTTGCCA GCCATCTGTT GTTTGCCCCT  3000
CCCCCGTGCC TTCCTTGACC CTGGAAGGTG CCACTCCCAC TGTCCTTTCC  3050
TAATAAAATG AGGAAATTGC ATCGCATTGT CTGAGTAGGT GTCATTCTAT  4000
TCTGGGGGGT GGGGTGGGGC AGGACAGCAA GGGGGAGGAT TGGGAAGACA  4050
ATAGCAGGCA TGCTGGGGAT GCGGTGGGCT CTATGGACCG GTCTCGAGAT  4100
CCACTAGGGC CGCAGGAACC CCTAGTGATG GAGTTGGCCA CTCCCTCTCT  4150
GCGCGCTCGC TCGCTCACTG AGGCCGCCCG GGCTTTGCCC GGGCGGCCTC  4200
AGTGAGCGAG CGAGCGCGCA G                                 4221
```

配列番号９

【０２４８】
いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクター（例えば、ＡＡＶ－００１ｒＡＡＶベクター）は、αガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）発現カセットを含み、このカセットは、アルファ１－アンチトリプシン（ｈＡＡＴ）プロモーターに作動可能に連結されたアポリポタンパク質Ｅ（ＡＰＯＥ）エンハンサー、ヒトヘモグロビンベータ（ＨＢＢ）－ＩＧＧイントロン、シグナルペプチドをコードする配列、少なくとも１つのα－Ｇａｌ　Ａタンパク質をコードするα－ガラクトシダーゼＡ（α－Ｇａｌ　Ａ）導入遺伝子、及びウシ成長ホルモンポリＡシグナル配列を含む。いくつかの態様において、エンハンサーは配列番号２に記載のヌクレオチド配列を含み、プロモーターは配列番号３に記載のヌクレオチド配列を含み、イントロンは配列番号４に記載のヌクレオチド配列を含み、α－Ｇａｌ　Ａ導入遺伝子は配列番号５に記載のヌクレオチド配列を含み、変異ＷＰＲＥ配列は配列番号６に記載のヌクレオチド配列を含み、ポリＡシグナル配列は配列番号７に記載のヌクレオチド配列を含む。

【０２４９】
いくつかの態様において、本開示のα－Ｇａｌ　Ａ発現カセットは、配列番号９に記載のヌクレオチド配列を含む。

【０２５０】
いくつかの態様において、ヒトα－ガラクトシダーゼＡのシグナルペプチドは、配列番号１０に記載のアミノ酸配列を含む。

【０２５１】
ヒトα－ガラクトシダーゼＡシグナルペプチド（配列番号１０）
ＭＱＬＲＮＰＥＬＨＬＧＣＡＬＡＬＲＦＬＡＬＶＳＷＤＩＰＧＡＲＡ

【０２５２】
ＩＶ．医薬組成物及び製剤
いくつかの態様において、本明細書に開示される方法及び組成物に有用なＡＡＶ発現ベクターは、医薬組成物中に存在する。したがって、本開示のいくつかの態様は、本開示のＡＡＶ発現ベクターを、薬学的に許容される担体、希釈剤、可溶化剤、乳化剤、防腐剤、及び／または補助剤と一緒に含む、医薬組成物を対象とする。

【０２５３】
いくつかの態様において、薬学的に許容される担体は、$CaCl_2$、$MgCl_2$、ＮａＣｌ、スクロース、及びＫｏｌｌｉｐｈｏｒ（ポロキサマー）Ｐ１８８を含有するリン酸緩衝食塩水を含む。

【０２５４】
いくつかの態様において、許容される製剤材料は、使用される投与量及び濃度において受容者に対して無毒であることが好ましい。いくつかの態様において、製剤材料（複数可）は、皮下投与及び／または静脈内投与用である。いくつかの態様において、医薬組成物は、組成物の、例えば、ｐＨ、浸透圧、粘度、透明度、色、等張性、臭気、無菌性、安定性、溶解または放出速度、吸着または浸透を、変更、維持または保存するための製剤材料を含む。いくつかの態様において、好適な製剤材料としては、アミノ酸（グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニン、またはリジンなど）；抗菌剤、抗酸化剤（アスコルビン酸、亜硫酸ナトリウム、または亜硫酸水素ナトリウムなど）；緩衝液（ホウ酸塩、重炭酸塩、トリス－ＨＣｌ、クエン酸塩、リン酸塩、またはその他の有機酸など）；増量剤（マンニトールまたはグリシンなど）；キレート剤（エチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ）など）；錯化剤（カフェイン、ポリビニルピロリドン、β－シクロデキストリン、またはヒドロキシプロピル－β－シクロデキストリンなど）；充填剤；単糖類；二糖類；及びその他の炭水化物（グルコース、マンノース、またはデキストリンなど）；タンパク質（血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリンなど）；着色剤、香味剤、及び希釈剤；乳化剤；親水性ポリマー（ポリビニルピロリドンなど）；低分子量ポリペプチド；塩形成対イオン（ナトリウムなど）；防腐剤（塩化ベンザルコニウム、安息香酸、サリチル酸、チメロサール、フェネチルアルコール、メチルパラベン、プロピルパラベン、クロルヘ

キシジン、ソルビン酸、または過酸化水素など）；溶剤（グリセリン、プロピレングリコール、またはポリエチレングリコールなど）；糖アルコール（マンニトールまたはソルビトールなど）；懸濁剤；界面活性剤または湿潤剤（プルロニック（登録商標）、ＰＥＧ、ソルビタンエステル、ポリソルベート（ポリソルベート２０、ポリソルベート８０など）、トリトン、トロメタミン、レシチン、コレステロール、チロキサパルなど）；安定性増強剤（スクロースまたはソルビトールなど）；張性増強剤（アルカリ金属ハロゲン化物、好ましくは塩化ナトリウムまたは塩化カリウム、マンニトール、ソルビトールなど）；送達ビヒクル；希釈剤、賦形剤及び／または医薬補助剤が挙げられるが、これらに限定されない。（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，１８ｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ａ．Ｒ．Ｇｅｎｎａｒｏ，ｅｄ．，Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏｍｐａｎｙ（１９９５）。

【０２５５】

いくつかの態様において、最適な医薬組成物は、例えば、意図される投与経路、送達形式、及び所望の投与量に応じて、当業者によって決定されるであろう。例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ（前掲）を参照。いくつかの態様において、このような組成物は、ＡＡＶ発現ベクターの物理的状態、安定性、ｉｎ ｖｉｖｏ放出速度、及び／またはｉｎ ｖｉｖｏクリアランス速度に影響を及ぼす。

【０２５６】

いくつかの態様において、医薬組成物中の主なビヒクルまたは担体は、本質的に水性または非水性のいずれかである。例えば、いくつかの態様において、好適なビヒクルまたは担体は、注射用水、生理食塩水、または人工脳脊髄液であり、非経口投与用の組成物に一般的な他の材料が補充される場合もある。いくつかの態様において、生理食塩水は、等張リン酸緩衝生理食塩水を含む。いくつかの態様において、中性緩衝生理食塩水または血清アルブミンと混合した生理食塩水は、さらなる例示的なビヒクルである。いくつかの態様において、医薬組成物は、約ｐＨ７．０～８．５のトリス緩衝液、または約ｐＨ４．０～５．５の酢酸緩衝液を含む。いくつかの態様において、医薬組成物は、ソルビトールまたはその好適な代替物をさらに含む。いくつかの態様において、ＡＡＶ発現ベクターを含む組成物は、所望の純度を有する選択された組成物を、凍結乾燥ケーキまたは水溶液の形態の任意の製剤薬（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ（前掲））と混合することによって、保存用に調製される。さらに、いくつかの態様において、ＡＡＶ発現ベクターを含む組成物は、スクロースなどの適切な賦形剤を使用して凍結乾燥物として製剤化される。

【０２５７】

いくつかの態様において、医薬組成物は、非経口送達用に選択される。

【０２５８】

いくつかの態様において、製剤成分は、投与部位に許容される濃度で存在する。いくつかの態様において、緩衝液は、組成物を生理学的ｐＨまたはわずかに低いｐＨ、通常は約５～約８の範囲内のｐＨに維持するために使用される。

【０２５９】

いくつかの態様において、非経口投与が企図される場合、治療組成物は、本開示のＡＡＶ発現ベクターを薬学的に許容されるビヒクル中に含む、発熱物質を含まない非経口的に許容される水溶液の形態である。いくつかの態様において、非経口注射用のビヒクルは、ＡＡＶ発現ベクターが滅菌等張液として製剤化され、適切に保存された滅菌蒸留水である。いくつかの態様において、調製には、所望の分子を、注射可能なマイクロスフェア、生体内分解性粒子、ポリマー化合物（ポリ乳酸またはポリグリコール酸など）、ビーズまたはリポソームなどの薬剤と製剤化することを含み、これにより、製品の制御放出または持続放出が提供され、その後、デポ注射によって送達することができる。いくつかの態様において、ヒアルロン酸も使用される。ヒアルロン酸が存在すると、循環内での持続期間を促進する効果が得られる。いくつかの態様において、所望の分子を導入するために、埋め

込み型薬物送達デバイスが使用される。

【０２６０】

いくつかの態様において、医薬組成物は、錠剤の製造に適した非毒性の賦形剤との混合物中に有効量のＡＡＶ発現ベクターを含む。いくつかの態様において、錠剤を滅菌水または別の適切な媒体に溶解することにより、単位用量形態の溶液が調製される。いくつかの態様において、適切な賦形剤には、炭酸カルシウム、炭酸ナトリウムもしくは重炭酸ナトリウム、ラクトース、またはリン酸カルシウムなどの不活性希釈剤；デンプン、ゼラチン、またはアカシアなどの結合剤；または、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、またはタルクなどの潤滑剤が挙げられるが、これらに限定されない。

【０２６１】

持続送達または制御送達製剤中のＡＡＶ発現ベクターが関与する製剤を含む、追加の医薬組成物は、当業者には明らかであろう。いくつかの態様において、リポソームキャリア、生体内分解性微粒子または多孔質ビーズ、デポ注射剤など、さまざまな他の持続送達または制御送達手段を製剤化する技術も、当業者に周知である。例えば、医薬組成物の送達のための多孔質ポリマー微粒子の制御された放出について記載しているＰＣＴ出願第ＰＣＴ／ＵＳ９３／００８２９号を参照のこと。いくつかの態様において、徐放性製剤には、例えば、フィルムまたはマイクロカプセルの成形された物品の形態の半透性ポリマーマトリックスが含まれ得る。持続放出マトリクスには、ポリエステル、ヒドロゲル、ポリラクチド（米国特許第３，７７３，９１９号及びＥＰ０５８，４８１）、Ｌ－グルタミン酸とガンマ－エチル－Ｌ－グルタメートとのコポリマー（Ｓｉｄｍａｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｐｏｌｙｍｅｒｓ，２２：５４７－５５６（１９８３））、ポリ（２－ヒドロキシエチル－メタクリレート）（Ｌａｎｇｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｍｅｄ．Ｍａｔｅｒ．Ｒｅｓ．，１５：１６７－２７７（１９８１）及びＬａｎｇｅｒ，Ｃｈｅｍ．Ｔｅｃｈ．，１２：９８－１０５（１９８２））、エチレン酢酸ビニル（Ｌａｎｇｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，（前掲））またはポリ－Ｄ（－）－３－ヒドロキシ酪酸（ＥＰ１３３，９８８）が含まれ得る。いくつかの態様において、持続放出組成物には、当該技術分野で周知のいくつかの方法のいずれかによって調製できるリポソームも含まれる。例えば、Ｅｐｐｓｔｅｉｎ　ｅｔ　ａｌ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８２：３６８８－３６９２（１９８５）；ＥＰ０３６，６７６；ＥＰ０８８，０４６及びＥＰ１４３，９４９を参照のこと。

【０２６２】

ｉｎ　ｖｉｖｏ投与で使用するための医薬組成物は、通常は、無菌である。いくつかの態様において、これは除菌濾過膜を通す濾過によって達成される。いくつかの態様において、組成物が凍結乾燥される場合、この方法を使用する滅菌は、凍結乾燥及び再構成の前または後に実施される。いくつかの態様において、非経口投与用の組成物は、凍結乾燥形態または溶液の状態で保存される。いくつかの態様において、非経口組成物は、一般に、無菌アクセスポートを有する容器、例えば、皮下注射針によって穿刺可能なストッパーを有する静脈用溶液袋またはバイアルに入れられる。

【０２６３】

いくつかの態様において、医薬組成物が製剤化されると、溶液、懸濁液、ゲル、乳剤、固体、または脱水粉末もしくは凍結乾燥粉末として無菌バイアルに保存される。いくつかの態様において、このような製剤は、すぐに使用できる形態、または投与前に再構成される形態（例えば、凍結乾燥）のいずれかで保存される。

【０２６４】

Ｖ．ファブリー病療法

いくつかの態様において、本開示は、本開示のＡＡＶ発現ベクターを用いてヒト対象におけるファブリー病を治療する方法を対象としており、対象は、投与前（「前治療」）にファブリー病の酵素補充療法（ＥＲＴ）を投与されているか、または投与前（「前治療」）にファブリー病の非酵素補充療法を施行されている。

【０２６５】

Ｖ．Ａ　酵素補充療法
いくつかの態様において、前治療ＥＲＴは、酵素補充療法を含む。
【０２６６】
　いくつかの態様において、前治療ＥＲＴは、組み換えαガラクトシダーゼＡ（ＧＬＡ）タンパク質またはＧＡＬを発現する遺伝子を含む。いくつかの態様において、前治療ＥＲＴは、アガルシダーゼアルファ及び／またはベータ、あるいはアガルシダーゼアルファ及び／またはベータを発現する遺伝子を含む。いくつかの態様において、酵素補充療法は、アガルシダーゼアルファ（Ｒｅｐｌａｇａｌ（登録商標）、Ｓｈｉｒｅ　Ｈｕｍａｎ　Ｇｅｎｅｔｉｃ　Ｔｈｅｒａｐｉｅｓ）、アガルシダーゼベータ（Ｆａｂｒａｚｙｍｅ（登録商標）、Ｓａｎｏｆｉ　Ｇｅｎｚｙｍｅ）、ペグニガルシダーゼアルファ（ＰＲＸ－１０２、Ｐｒｏｔａｌｉｘ　ＢｉｏＴｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ）、またはそれらの任意の組み合わせを投与することを含む。これらの形態のＥＲＴは、静脈内投与される酵素の組み換え形態によって患者の不十分なα－Ｇａｌ　Ａ活性を補うことを目的としている。ＥＲＴは、腎臓の毛細血管内皮及び他のいくつかの細胞型におけるＧｂ３沈着を減少させることが実証されている。ＥＲＴは多くの状況で効果的であるが、治療には制限もある。ＥＲＴが脳卒中のリスクを低下させることは実証されておらず、心筋の反応は遅く、腎臓のいくつかの細胞型からのＧｂ３の除去は限られている。一部の患者は、ＥＲＴに対する免疫反応を発生する。例えば、米国特許第１０，１５５，０２７号を参照のこと。
【０２６７】
　いくつかの態様において、約０．２ｍｇ／ｋｇ体重のアガルシダーゼアルファが、静脈内注入として２週間ごとに注入される。
【０２６８】
　いくつかの態様において、約０．３ｍｇ／ｋｇ体重のアガルシダーゼベータが、静脈内注入として２週間ごとに注入される。いくつかの態様において、約１ｍｇ／ｋｇ体重のアガルシダーゼベータが、静脈内注入として２週間ごとに注入される。
【０２６９】
　いくつかの態様において、より高い量のＥＲＴ投与を介して対象におけるより高い抗ＧＬＡ中和抗体レベルを飽和させることにより、臨床的利益（例えば、血漿ｌｙｓｏ－Ｇｂ３レベルの低下）が提供され得る。例えば、Ｌｅｎｄｅｒｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｏｒｐｈａｎｅｔ　Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｒａｒｅ　Ｄｉｓｅａｓｅｓ，１３（１７１）（２０１８）を参照のこと。
【０２７０】
　いくつかの態様において、前治療ＥＲＴは、遺伝子療法を含む。いくつかの態様において、遺伝子療法は、酵素をコードするベクターを含む。いくつかの態様において、ベクターは、ウイルスベクターである。いくつかの態様において、ウイルスベクターは、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）ベクターまたはレンチウイルスベクターを含む。いくつかの態様において、遺伝子療法は、ＡＶＲ－ＲＤ－０１（ＡｖｒｏＢｉｏ）、ＦＬＴ－１９０（Ｆｒｅｅｌｉｎｅ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ）、ペグニガルシダーゼアルファ（ＰＲＸ－１０２、Ｐｒｏｔａｌｉｘ　ＢｉｏＴｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ）、及び４Ｄ－３１０（４Ｄ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ）、またはそれらの任意の組み合わせを投与することを含む。
【０２７１】
　ＡＶＲ－ＲＤ－０１医薬品は、ヒトＡＧＡ相補デオキシリボ核酸（ｃＤＮＡ）配列をコードするレンチウイルスベクター／アルファガラクトシダーゼＡ（ＡＧＡ）を導入した細胞を含む自己ＣＤ３４＋細胞濃縮画分を含む。（ＣｌｉｎｉｃａｌＴｒｉａｌｓ．ｇｏｖ；Ｉｄｅｎｔｉｆｉｅｒ：ＮＣＴ０３４５４８９３）。
【０２７２】
　ＦＬＴ１９０は、肝臓特異的プロモーター（ＦＲＥ１）によって駆動され、ＡＡＶ８カプシドで擬型化された（ｓｓＡＡＶ８－ＦＲＥ１－ＧＬＡｃｏ）、コドンが最適化されたヒトＧＬＡｃＤＮＡを含む一本鎖（ｓｓ）ＡＡＶ遺伝子療法構築物である。（Ｎｅｐｈｒ

ｏｎ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｐｒａｃｔｉｃｅ，Ａｂｓｔｒａｃｔｓ：６ｔｈ Ｕｐｄａｔｅ ｏｎ Ｆａｂｒｙ Ｄｉｓｅａｓｅ：Ｂｉｏｍａｒｋｅｒｓ，Ｐｒｏｇｒｅｓｓｉｏｎ ａｎｄ Ｔｒｅａｔｍｅｎｔ Ｏｐｐｏｒｔｕｎｉｔｉｅｓ，Ｍａｙ ２６－２８，２０１９，Ｐｒａｇｕｅ，Ｃｚｅｃｈ Ｒｅｐｕｂｌｉｃ）。

【０２７３】

ペグニガルシダーゼアルファ（ＰＲＸ－１０２）は、治験の、植物細胞培養で発現され、化学的に修飾された組み換えα－ガラクトシダーゼ－Ａ酵素の安定化バージョンである。タンパク質サブユニットは、短いＰＥＧ部分を使用した化学架橋を介して共有結合され、独自の薬物動態パラメータを持つ分子をもたらす。臨床試験では、ＰＲＸ－１０２は、約８０時間の循環半減期を有することが観察されている。

【０２７４】

４Ｄ－３１０は、カプシド（４Ｄ－Ｃ１０２）と、ＣＡＧプロモーターによって駆動されるコドン最適化された全長ヒトＧＬＡ導入遺伝子をコードする導入遺伝子カセットとの、２つの有効成分から構成されるアデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）遺伝子療法である。４Ｄ－３１０は、複製できないように（複製不能）設計されている。（ＣｌｉｎｉｃａｌＴｒｉａｌｓ．ｇｏｖ；Ｉｄｅｎｔｉｆｉｅｒ：ＮＣＴ０４５１９７４９）。

【０２７５】

いくつかの態様において、遺伝子療法は、酵素をコードするベクターを含む。いくつかの態様において、例えば米国特許第９，３０８，２８１号に記載されるように、ベクターは、ヒトＧＬＡタンパク質あるいはアガルシダーゼアルファ及び／またはベータをコードするｍＲＮＡを含む。いくつかの態様において、ｍＲＮＡは、ｍＲＮＡに安定性を与える１つ以上の改変（例えば、ｍＲＮＡの野生型またはネイティブバージョンと比較して）を含むことができ、また、タンパク質の関連する異常な発現に関与する欠陥を修正する、野生型に対する１つ以上の改変を含むこともできる。例えば、本開示の核酸は、５’及び３’非翻訳領域の一方または両方に対する改変を含み得る。このような改変には、サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）前初期１（ＩＥ１）遺伝子の部分配列、ポリＡテール、Ｃａｐ１構造、またはヒト成長ホルモン（ｈＧＨ）をコードする配列の組込みが含まれ得るが、これらに限定されない。いくつかの態様において、ｍＲＮＡは、ｍＲＮＡ免疫原性を低下させるように改変される。

【０２７６】

いくつかの態様において、遺伝子療法は、導入ビヒクルによって送達される。いくつかの態様において、導入ビヒクルは、米国特許第９，３０８，２８１号に記載される、リポソーム導入ビヒクル、例えば、脂質ナノ粒子である。いくつかの態様において、ヒトＧＬＡタンパク質またはアガルシダーゼアルファ及び／またはベータをコードするｍＲＮＡは、標的細胞への送達を容易にするためにリポソームリポソーム導入ビヒクルに製剤化される。企図される導入ビヒクルは、１つ以上のカチオン性脂質、非カチオン性脂質、及び／またはＰＥＧ修飾脂質を含み得る。例えば、導入ビヒクルは、以下のカチオン性脂質のうち少なくとも１つを含み得る：Ｃ１２－２００、ＤＬｉｎ－ＫＣ２－ＤＭＡ、ＤＯＤＡＰ、ＨＧＴ４００３、ＩＣＥ、ＨＧＴ５０００、及びＨＧＴ５００１。いくつかの態様において、導入ビヒクルは、コレステロール（ｃｈｏｌ）及び／またはＰＥＧ修飾脂質を含む。いくつかの態様において、導入ビヒクルは、ＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋを含む。いくつかの態様において、導入ビヒクルは、以下の脂質製剤のうちの１つを含む：Ｃ１２－２００、ＤＯＰＥ、ｃｈｏｌ、ＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ、ＤＯＤＡＰ、ＤＯＰＥ、コレステロール、ＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ、ＨＧＴ５０００、ＤＯＰＥ、ｃｈｏｌ、ＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ、ＨＧＴ５００１、ＤＯＰＥ、ｃｈｏｌ、及びＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ。

【０２７７】

いくつかの態様において、前治療ＥＲＴは、Ｇａｌａｆｏｌｄ（登録商標）（ｍｉｇａｌａｓｔａｔ；Ａｍｉｃｕｓ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ）を投与することを含む。Ｇａｌａｆｏｌｄ（登録商標）は、アルファ－ガラクトシダーゼＡ（アルファ－Ｇａｌ Ａ）薬理学的シャペロンである。いくつかの態様において、例えば、Ｌｅｎｄｅｒｓ ｅｔ

ａｌ．，Ｊ Ａｍ Ｓｏｃ Ｎｅｐｈｒｏｌ，２９：２２６５－２２７８（２０１８）に記載されているように、１２３ｍｇのＧａｌａｆｏｌｄ（登録商標）を１日おきに同じ時間に経口投与する。

【０２７８】

Ｖ．Ｂ 酵素補充療法及び活性部位特異的シャペロン

いくつかの態様において、本開示の前治療ＥＲＴは、例えば米国特許第１０，１５５，０２７号に記載されているように、α－ガラクトシダーゼＡタンパク質（例えば、組み換えα－Ｇａｌ Ａ（ｒｈα－Ｇａｌ Ａ））と、α－Ｇａｌ Ａの活性部位特異的シャペロン（ＡＳＳＣ）、例えばミガラスタット（１－デオキシガラクトノジリマイシン（ＤＧＪ））との組み合わせを含む。

【０２７９】

いくつかの態様において、本開示は、α－Ｇａｌ Ａ（例えば、ｒｈα－Ｇａｌ ＡＥＲＴ）とα－Ｇａｌ Ａ酵素（例えば、（ＤＧＪ））のためのＡＳＳＣとの併用療法を提供する。いくつかの態様において、α－Ｇａｌ Ａ及びＡＳＳＣは一緒に共製剤化され、共製剤として同時に対象に投与される。いくつかの態様において、ＡＳＳＣ１－デオキシガラクトノジリマイシンは、医薬組成物としてα－Ｇａｌ Ａと共製剤化される。このような組成物は、保管中（すなわち、ｉｎ ｖｉｔｒｏ）及び対象への投与後のｉｎ ｖｉｖｏの両方でα－Ｇａｌ Ａの安定性を高めることができ、それによって循環半減期、組織取り込みが増加し、α－Ｇａｌ Ａの治療効果が増加する（例えば、組織ＧＬ－３レベルの減少を増加させる）。いくつかの態様において、投与経路は静脈内である。投与は、製剤を定期的にボーラス注射することによって行うことができ、または、例えば、外部のリザーバー（例えば、ＩＶバッグ）からの静脈内投与など、長期間にわたる徐放性投与形態として行うこともできる。

【０２８０】

静脈内投与用途に好適な共製剤には、注入可能な無菌溶液または滅菌分散液を即時調製するための無菌水溶液または無菌分散液及び滅菌粉末が含まれる。いくつかの態様において、形態は、無菌であり、通針性が存在する程度に流体である。いくつかの態様において、製造及び保管の条件下で安定であり、細菌及び真菌などの微生物の混入作用から保護される。いくつかの態様において、共製剤は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール及び液状ポリエチレングリコールなど）、その好適な混合物、及び植物油を含有する、溶媒または分散媒などの担体を含む。適切な流動性は、例えば、レシチン等のコーティングの使用によって、分散の場合には必要とされる粒径の維持によって、及び界面活性剤の使用によって、維持することができる。微生物の作用の抑制は、種々の抗細菌剤及び抗真菌剤（例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、ベンジルアルコール、ソルビン酸等）によってもたらされ得る。

【０２８１】

いくつかの態様において、等張剤、例えば、糖類または塩化ナトリウムが添加される。注射可能組成物の長期吸収は、吸収を遅延させる薬剤、例えば、モノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンを、組成物中に使用することによってもたらされ得る。無菌注射用溶液は、上述のさまざまな他の成分とともに、α－Ｇａｌ Ａ及びＡＳＳＣ（例えば、ＤＧＪ）を必要な量で適切な溶媒中に組込み、必要に応じて、その後濾過または最終滅菌することにより調製することができる。一般に、分散液は、滅菌されたさまざまな有効成分を、基本的な分散媒と、上記の成分のうち必要とされる他の成分とを含有する無菌ビヒクル中に組み込むことにより調製することができる。無菌注射用溶液の調製のための無菌粉末の場合、その調製の好ましい方法は、予め無菌濾過した溶液から有効成分と任意の所望の追加成分とを合わせた粉末が得られる、真空乾燥及び凍結乾燥技術である。

【０２８２】

いくつかの態様において、共製剤は、賦形剤を含み得る。共製剤に含めることができる薬学的に許容される賦形剤は、クエン酸緩衝液、リン酸緩衝液、酢酸緩衝液、及び重炭酸緩衝液などの緩衝液、アミノ酸、尿素、アルコール、アスコルビン酸、リン脂質；血清ア

ルブミン、コラーゲン、及びゼラチンなどのタンパク質、塩（ＥＤＴＡ、ＥＧＴＡ、及び塩化ナトリウムなど）、リポソーム、ポリビニルピロリドン、糖（デキストラン、マンニトール、ソルビトール、及びグリセロールなど）、プロピレングリコール、及びポリエチレングリコール（例えば、ＰＥＧ－４０００、ＰＥＧ－６０００）、グリセロール、グリシン（またはその他のアミノ酸）、ならびに脂質である。共製剤とともに使用される緩衝液系には、クエン酸緩衝液、酢酸緩衝液、重炭酸緩衝液、及びリン酸緩衝液が含まれ得る。

【０２８３】

共製剤には非イオン性洗剤も含まれ得る。非イオン性洗剤には、ポリソルベート２０、ポリソルベート８０、トリトンＸ－１００、トリトンＸ－１１４、ノニデット（登録商標）Ｐ－４０、オクチルα－グルコシド、オクチルβ－グルコシド、ブリッジ３５、プルロニック（登録商標）、Ｔｗｅｅｎ２０が挙げられるが、これらに限定されない。

【０２８４】

タンパク質及びシャペロン製剤の凍結乾燥の場合、タンパク質濃度は、約０．１ｍｇ／ｍＬ～約１０ｍｇ／ｍＬであり得る。グリシン、マンニトール、アルブミン、及びデキストランなどの増量剤が、凍結乾燥混合物に添加され得る。さらに、二糖類、アミノ酸、及びＰＥＧなどの凍結保護剤を、凍結乾燥混合物に添加することも可能である。上記の緩衝液、賦形剤、洗剤のいずれかを添加することもできる。

【０２８５】

いくつかの態様において、共製剤は、約０．０５～約１００μＭ、約０．１～約７５μＭ、約０．２～約５０μＭ、約０．３～約４０μＭ、約０．４～約３０μＭ、約０．５～約２０μＭ、約０．６～約１５μＭ、約０．７～約１０μＭ、約０．８～約９μＭ、約０．９～約８μＭ、約１～約７μＭ、約２～約６μＭ、または約３～約５μＭの濃度のα－Ｇａｌ　Ａを含む。

【０２８６】

いくつかの態様において、共製剤は、約０．１、０．２、０．３、０．４、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１、１．１、１．２、１．５、２、２．５、３、３．５、４、４．５、５、５．５、６、６．５、７、７．５、８、８．５、９、９．５、１０、１０．５、１１、１１．５、１２、１２．５、１３、１３．５、１４、１４．５、または１５μＭの濃度のα－Ｇａｌ　Ａを含む。

【０２８７】

いくつかの態様において、共製剤は、約０．００２５～約５ｍｇ／ｍｌ、約０．００５～約４．５ｍｇ／ｍｌ、約０．０２５～約４ｍｇ／ｍｌ、約０．０５～約３．５ｍｇ／ｍｌ、約０．２５～約３ｍｇ／ｍｌ、約０．５～約２．５ｍｇ／ｍｌ、約０．７５～約２ｍｇ／ｍｌ、または約１～約１．５ｍｇ／ｍｌの濃度のα－Ｇａｌ　Ａを含む。

【０２８８】

いくつかの態様において、共製剤は、約１０～約２５，０００μＭ、約５０～約２０，０００μＭ、約１００～約１５，０００μＭ、約１５０～約１０，０００μＭ、約２００～約５，０００μＭ、約２５０～約１，５００μＭ、約３００～約１，０００μＭ、約３５０～約５５０μＭ、または約４００～約５００μＭの濃度のＤＧＪを含む。

【０２８９】

いくつかの態様において、共製剤は、約０．００２～約５ｍｇ／ｍｌ、約０．００５～約４．５ｍｇ／ｍｌ、約０．０２～約４ｍｇ／ｍｌ、約０．０５～約３．５ｍｇ／ｍｌ、約０．２～約３ｍｇ／ｍｌ、約０．５～約２．５ｍｇ／ｍｌ、または約１～約２ｍｇ／ｍｌの濃度のＤＧＪを含む。

【０２９０】

いくつかの態様において、共製剤は、約５０、１００、１５０、２００、２５０、３００、３５０、４００、４５０、５００、５５０、６００、６５０、７００、７５０、８００、８５０、９００、９５０、１０００、２０００、３０００、４０００、５０００、６０００、７０００、８０００、９０００、１００００、１１０００、１２０００、１３０

００、１４０００、１５０００、１６０００、１７０００、１８０００、１９０００、または２００００μＭの濃度のＤＧＪを含む。

【０２９１】

いくつかの態様において、α－Ｇａｌ　Ａ酵素及びＤＧＪを組み合わせて、対象に投与するための共製剤を作成し、対象に投与される共製剤のα－Ｇａｌ　Ａ酵素の投与量は、約０．０５～約１０ｍｇ／ｋｇ、約０．１～約５ｍｇ／ｋｇ、約０．２～約４ｍｇ／ｋｇ、約０．３～約３ｍｇ／ｋｇ、約０．４～約２ｍｇ／ｋｇ、約０．５～約１．５ｍｇ／ｋｇ、または約０．５～約１ｍｇ／ｋｇである。

【０２９２】

いくつかの態様において、対象に投与される共製剤のα－Ｇａｌ　Ａ酵素の投与量は、約０．０５、０．１、０．２、０．３、０．４、０．５、１、１．５、２、２．５、３、３．５、４、４．５、または５ｍｇ／ｋｇである。

【０２９３】

いくつかの態様において、α－Ｇａｌ　Ａ酵素及びＤＧＪを組み合わせて、対象に投与するための共製剤を作成し、対象に投与される共製剤のＤＧＪの投与量は、約０．０５～２０ｍｇ／ｋｇ、約０．１～１５ｍｇ／ｋｇ、約０．２～１０ｍｇ／ｋｇ、約０．３～１０ｍｇ／ｋｇ、約０．４～９ｍｇ／ｋｇ、約０．５～８ｍｇ／ｋｇ、約０．６～７ｍｇ／ｋｇ、約０．７～６ｍｇ／ｋｇ、約０．８～５ｍｇ／ｋｇ、約０．９～４ｍｇ／ｋｇ、約１～３ｍｇ／ｋｇ、または約１．５～２ｍｇ／ｋｇである。

【０２９４】

いくつかの態様において、対象に投与される共製剤のＤＧＪの投与量は、約０．０５、０．１、０．２、０．３、０．４、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０ｍｇ／ｋｇである。

【０２９５】

いくつかの態様において、α－Ｇａｌ　ＡとＤＧＪの共製剤は、α－Ｇａｌ　Ａは共製剤と同じ投与量であるが、ただしＤＧＪなしで対象に投与された場合に達成される血漿ＡＵＣ濃度の約０．５～１０倍、約１～約８倍、約１．５～約６倍、約２～約５．５倍、約２．５～約５倍、または約３～約４．５倍の血漿ＡＵＣ濃度を達成するのに有効な量で対象に静脈内投与することができる。

【０２９６】

本明細書で使用される場合、「ＡＵＣ」という用語は、所与の薬物に対する経時的な身体の総曝露量を評価するための数学的計算を表す。投与後の血中濃度をプロットしたグラフでは、薬物濃度変数がｙ軸にあり、時間がｘ軸にある。指定された時間間隔における薬物濃度曲線とｘ軸の間の面積がＡＵＣである。ＡＵＣは、投与スケジュールのガイドとして、また体内での異なる薬剤の利用可能性を比較するために使用される。

【０２９７】

いくつかの態様において、α－Ｇａｌ　ＡとＤＧＪの共製剤は、α－Ｇａｌ　Ａは共製剤と同じ投与量であるが、ただしＤＧＪなしで対象に投与された場合に達成されるα－Ｇａｌ　Ａ組織取り込みレベルの約０．５～１０倍、約１～約８倍、約１．５～約６倍、約２～約５．５倍、約２．５～約５倍、または約３～約４．５倍のα－Ｇａｌ　Ａ組織取り込みレベルを達成するのに有効な量で対象に静脈内投与することができる。

【０２９８】

共製剤の送達は、数時間、１～数週間、１～数か月、または最長１年以上の範囲の、事前に選択された投与期間にわたって継続することができる。いくつかの態様において、投与形態は、長期間にわたってα－Ｇａｌ　Ａを送達するのに適したものである。そのような送達デバイスは、α－Ｇａｌ　Ａを、数時間（例えば、２時間、１２時間、または２４時間～４８時間以上）、数日間（例えば、２日～５日間以上、約１００日間以上）、数か月または数年間投与するように適合させることができる。いくつかの態様において、デバイスは、約１か月～約１２か月以上の範囲期間にわたる送達に適している。α－Ｇａｌ　Ａ送達デバイスは、例えば、約２時間～約７２時間、約４時間～約３６時間、約１２時間

～約２４時間、約２日～約３０日、約５日～約２０日、約７日～約１００日以上、約１０日～約５０日；約１週間～約４週間、約１か月～約２４か月以上、約２か月～約１２か月、約３か月～約９か月、または必要に応じてこれらの範囲内での増分範囲を含むその他の時間範囲の期間にわたって、α－Ｇａｌ　Ａを個体に投与するように適合されたものであり得る。

【０２９９】

いくつかの態様において、ＤＧＪとの共製剤中に存在するα－Ｇａｌ　Ａの用量は、１日１回、２日ごとに１回、３日ごとに１回、４日ごとに１回、５日ごとに１回、または６日ごとに１回静脈内投与される。いくつかの態様において、用量は、個体の肝臓におけるα－Ｇａｌ　Ａの毒性レベルをもたらさない。いくつかの態様において、α－Ｇａｌ　ＡとＤＧＪの共製剤組成物は、投与後約２４時間以内に、対象の組織におけるα－Ｇａｌ　Ａのピーク濃度をもたらすのに十分な投与量で投与される。いくつかの態様において、共製剤組成物は、用量の投与後約０．２～約５０時間、約０．２～約２４時間、約０．２～約５時間、約０．２～約１時間、約０．２～約０．５時間、または約４０、３０、２０、１０、５、１、０．５以下の時間内に対象の組織中のα－Ｇａｌ　Ａのピーク濃度をもたらすのに十分な用量で投与される。いくつかの態様において、共製剤は、単回投与として投与される。いくつかの態様において、共製剤は、複数投与として投与される。

【０３００】

Ｖ．Ｃ　非酵素補充療法

いくつかの態様において、ファブリー病のための療法は、酵素補充療法である。

【０３０１】

いくつかの態様において、非酵素補充療法は、小分子療法を含む。ファブリー病の小分子療法のためのいくつかの新たな医薬品開発戦略には、基質還元療法（ＳＲＴ）、残留酵素活性化、ＧＬＡプロモーター活性化、タンパク質恒常性調節（プロテオスタシス）、及び化学シャペロン療法（ＣＣＴ）が挙げられるが、これらに限定されず、例えば、Ｍｏｔａｂａｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｕｒｒ　Ｃｈｅｍ　Ｇｅｎｏｍｉｃｓ４：５０－５６（２０１０）に記載されている。

【０３０２】

いくつかの態様において、小分子療法は、ルセラスタット（Ｉｄｏｒｓｉａ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ　Ｌｔｄ）、ベングルスタット（Ｓａｎｏｆｉ　Ｇｅｎｚｙｍｅ）、またはアパベタロン（開発コードＲＶＸ２０８、ＲＶＸ－２０８、及びＲＶＸ０００２２２、Ｒｅｓｖｅｒｌｏｇｉｘ　Ｃｏｒｐ．）、またはそれらの任意の組み合わせを投与することを含む。

【０３０３】

ＶＩ．ＡＡＶ発現ベクターの製造方法

また、本開示の範囲内には、ウイルス複製細胞をＡＡＶポリヌクレオチドまたはＡＡＶゲノム（例えば、本開示のＡＡＶベクター）と接触させることを含む、ウイルス複製細胞内でのウイルスゲノム複製によるＡＡＶ粒子の生成方法も含まれる。本開示の文脈において、本明細書に開示されるＡＡＶ発現ベクターは、ＡＡＶペイロード構築物ベクターとみなされる。

【０３０４】

いくつかの態様において、ＡＡＶ粒子は、以下のステップを含む方法によって生成される：（１）バクミドベクターと、ウイルス構築ベクター及び／またはＡＡＶペイロード構築物ベクターのいずれかとを、コンピテント細菌細胞に共トランスフェクトするステップ、（２）得られたウイルス構築物発現ベクター及びＡＡＶペイロード構築物発現ベクターを単離し、ウイルス複製細胞を別々にトランスフェクトするステップ、（３）得られたペイロードと、ウイルス構築物発現ベクターまたはＡＡＶペイロード構築物発現ベクターを含むウイルス構築物粒子とを、単離及び精製するステップ、（４）ＡＡＶペイロードと、ウイルス構築物発現ベクターまたはＡＡＶペイロード構築物発現ベクターを含むウイルス構築物粒子との両方を、ウイルス複製細胞に共感染させるステップ、及び（５）パルボウ

イルスゲノムを含むウイルス粒子を収集及び精製するステップ。

【０３０５】

一態様において、本開示は、ＡＡＶ粒子を生成するための方法を提供し、この方法は、（１）ペイロード領域（例えば、本開示の治療分子をコードするポリヌクレオチド）、ｒｅｐ遺伝子及びｃａｐ遺伝子を発現する構築物、及びヘルパー構築物を、ＨＥＫ２９３細胞など（ただし、これに限定されない）の哺乳動物細胞に同時に共トランスフェクトするステップと、（２）ウイルスゲノムを含むＡＡＶ粒子を採取して精製するステップとを含む。

【０３０６】

いくつかの態様において、ＡＡＶ粒子は、昆虫細胞を含むウイルス複製細胞内で生成され得る。培養される昆虫細胞の生育条件、及び培養される昆虫細胞における異種産物の生産は、当該技術分野で周知であり、例えば、米国特許第６，２０４，０５９号を参照のこと。

【０３０７】

ウイルス複製細胞は、原核生物（例えば、細菌）細胞、及び昆虫細胞、酵母細胞、及び哺乳動物細胞を含む真核生物細胞を含む任意の生物有機体から選択することができる。ウイルス複製細胞には、Ａ５４９、ＷＥＨ１、３Ｔ３、１０Ｔ１／２、ＢＨＫ、ＭＤＣＫ、ＣＯＳ１、ＣＯＳ７、ＢＳＣ１、ＢＳＣ４０、ＢＭＴ１０、ＶＥＲＯなどの哺乳動物細胞が含まれ得る。

【０３０８】

Ｗ１３８、ＨｅＬａ、ＨＥＫ２９３、Ｓａｏｓ、Ｃ２Ｃ１２、Ｌ細胞、ＨＴ１０８０、ＨｅｐＧ２、及び哺乳類由来の一次線維芽細胞、肝細胞、筋芽細胞。ウイルス複製細胞は、ヒト、サル、マウス、ラット、ウサギ、及びハムスターを含む（ただし、これに限定されない）哺乳類種に由来する細胞、または線維芽細胞、肝細胞、腫瘍細胞、細胞株形質転換細胞を含む（ただし、これに限定されない）細胞型を含む。

【０３０９】

本明細書に開示されるウイルス産生は、標的細胞に接触して、ペイロード（例えば、α－Ｇａｌ　Ａタンパク質などのペイロードをコードするポリヌクレオチド配列を含む組み換えウイルス構築物）を送達するＡＡＶ粒子を生成するためのプロセス及び方法を記載する。

【０３１０】

いくつかの態様において、ＡＡＶ粒子は、哺乳動物細胞を含むウイルス複製細胞内で生成され得る。組み換えＡＡＶ粒子の生成に一般的に使用されるウイルス複製細胞には、２９３細胞、ＣＯＳ細胞、ＨｅＬａ細胞、ＫＢ細胞が挙げられるが、これらに限定されない。

【０３１１】

いくつかの態様において、ＡＡＶ粒子は哺乳動物細胞で生成され、３つのＶＰタンパク質すべてが１：１：１０（ＶＰ１：ＶＰ２：ＶＰ３）に近い化学量論で発現する。この制御されたレベルの発現を可能にする調節機構には、差動スプライシングによって生成される２つのｍＲＮＡ（１つはＶＰ１用、もう１つはＶＰ２とＶＰ３用）の生成が含まれる。

【０３１２】

いくつかの態様において、ＡＡＶ粒子は、トリプルトランスフェクション法を使用して哺乳動物細胞内で生成され、ペイロード構築物、パルボウイルスＲｅｐ及びパルボウイルスＣａｐ並びにヘルパー構築物が３つの異なる構築物内に含まれる。ＡＡＶ粒子生成の３つの構成要素のトリプルトランスフェクション法を、形質導入効率、標的組織（向性）評価、安定性などのアッセイ用の小ロットのウイルスを産生するために利用することができる。

【０３１３】

いくつかの態様において、ウイルス構築物ベクター及びＡＡＶペイロード構築物ベクターは、それぞれ、当業者に周知であり、実施される標準的な分子生物学技術によって、ト

ランスポゾン供与体／受容体システムによってバクミド（バキュロウイルスプラスミドとも知られる）に組み込むことができる。別々のウイルス複製細胞集団のトランスフェクションによって、２つのバキュロウイルスが生成され、１つはウイルス構築物発現ベクターを含み、もう１つはＡＡＶペイロード構築物発現ベクターを含む。２つのバキュロウイルスは、ＡＡＶ粒子を生成するための単一のウイルス複製細胞集団を感染するために使用され得る。

【０３１４】

昆虫細胞（Ｓｐｏｄｏｐｔｅｒａ　ｆｒｕｇｉｐｅｒｄａ（Ｓｆ９）細胞を含むがこれに限定されない）内でウイルス粒子生成物を提供するためのバキュロウイルス発現ベクターは、高力価のウイルス粒子生成を提供する。ウイルス構築物発現ベクター及びＡＡＶペイロード構築物発現ベクターをコードする組み換えバキュロウイルスは、ウイルス複製細胞の生産的な感染を開始する。一次感染から放出された感染性バキュロウイルス粒子は、培養中の追加の細胞に二次感染し、初期の感染多重度の関数である感染サイクル数で細胞培養集団全体を指数関数的に感染させる、例えば、Ｕｒａｂｅ，Ｍ．ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ｖｉｒｏｌ．２００６　Ｆｅｂ；８０（４）：１８７４－８５を参照されたく、この内容は、全体として参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクター（例えば、ＡＡＶ－００１ｒＡＡＶベクター）は、ＡＡＶ２由来のＩＴＲと両端で隣接するα－Ｇａｌ　Ａ発現カセットを含み、α－Ｇａｌ　Ａ発現カセットは、Ｓｆ９昆虫細胞／組み換えバキュロウイルス（Ｓｆ９／ｒＢＶ）発現系を使用して、アデノ随伴ウイルス６型（ＡＡＶ６）由来のカプシドとともにパッケージングされている。いくつかの態様において、本開示のＡＡＶ発現ベクター（例えば、ＡＡＶ－００１ｒＡＡＶベクター）は、ＡＡＶ２由来のＩＴＲと両端で隣接するα－Ｇａｌ　Ａ発現カセットを含み、α－Ｇａｌ　Ａ発現カセットは、哺乳動物発現系、例えばＨＥＫ２９３を使用して、ＡＡＶ６由来のカプシドとともにパッケージングされている。

【０３１５】

昆虫細胞系内でバキュロウイルスを使用してＡＡＶ粒子を生成すると、周知であるバキュロウイルスの遺伝的及び物理的不安定性に対処することができる。バキュロウイルスに感染したウイルス産生細胞は、液体窒素中で凍結保存できるアリコートで採取される。アリコートは、大規模なウイルス産生細胞培養の感染のために生存能力と感染力を保持している（Ｗａｓｉｌｋｏ　ＤＪ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｘｐｒ　Ｐｕｒｉｆ．２００９　Ｊｕｎ；６５（２）：１２２－３２）。

【０３１６】

いくつかの態様において、バキュロウイルス感染を許容する安定したウイルス複製細胞は、ＡＡＶゲノム全体、Ｒｅｐ遺伝子及びＣａｐ遺伝子、Ｒｅｐ遺伝子、Ｃａｐ遺伝子、個別の転写カセットとしての各Ｒｅｐタンパク質、個別の転写カセットとしての各ＶＰタンパク質、ＡＡＰ（アセンブリ活性化タンパク質）、またはネイティブまたは非ネイティブのプロモーターを持つバキュロウイルスヘルパー遺伝子の少なくとも１つを含むがこれらに限定されない、ＡＡＶ複製及びウイルス粒子生成に必要な要素のいずれかの少なくとも１つの安定した統合コピーを使用して設計される。

【０３１７】

いくつかの態様において、ＡＡＶ粒子生成は、生産の規模を拡大するために改変され得る。大規模培養形式での複製細胞のトランスフェクションは、当技術分野で周知の任意の方法に従って行うことができる。

【０３１８】

いくつかの態様において、細胞培養バイオリアクターを、大規模なウイルス産生に使用することができる。場合によっては、バイオリアクターは、撹拌タンクリアクターを含む。

【０３１９】

細胞溶解

本開示の細胞（ウイルス産生細胞を含むがこれに限定されない）は、当該技術分野で周

知の任意の方法に従って細胞溶解に供され得る。細胞溶解は、本開示の任意の細胞内に存在する１つ以上の因子（例えば、ウイルス粒子）を得るために実行され得る。

【０３２０】

細胞溶解方法は、化学的または機械的であり得る。化学的細胞溶解法は、通常は、１つ以上の細胞を１つ以上の溶解剤と接触させることを含む。機械的溶解は、通常は、１つ以上の細胞を１つ以上の溶解条件及び／または１つ以上の溶解力に供すること含む。いくつかの態様において、化学溶解を使用して細胞を溶解することができる。本明細書で使用される場合、「溶解剤」という用語は、細胞の破壊を助けることができる任意の薬剤を指す。場合によっては、溶解剤は、溶解溶液または溶解緩衝液と呼ばれる溶液に導入される。本明細書で使用される場合、「溶解溶液」という用語は、１つ以上の溶解剤を含む溶液（通常は水性）を指す。溶解剤に加えて、溶解溶液は、１つ以上の緩衝剤、可溶化剤、界面活性剤、防腐剤、凍結保護剤、酵素、酵素阻害剤、及び／またはキレート剤を含み得る。

【０３２１】

細胞膜を破壊するのに有効な濃度を得るために、塩の濃度を増加または減少させることができる。洗剤を含む溶解剤には、イオン性洗剤または非イオン性洗剤が含まれ得る。洗剤は、細胞膜、細胞壁、脂質、炭水化物、リポタンパク質、及び糖タンパク質を含むがこれらに限定されない細胞構造を、破壊または溶解させるために機能し得る。

【０３２２】

いくつかの態様において、機械的細胞溶解が実行される。機械的細胞溶解方法には、１つ以上の溶解条件及び／または１つ以上の溶解力の使用が含まれ得る。本明細書で使用される場合、「溶解条件」という用語は、細胞破壊を促進する状態または状況を指す。溶解条件には、特定の温度、圧力、浸透純度、塩分濃度等が含まれ得る。いくつかの態様において、溶解条件は、温度の上昇または低下を含む。いくつかの態様において、溶解条件は、細胞破壊を促進するための温度変化を含む。このような態様に従って実行される細胞溶解には、凍結融解溶解が含まれ得る。

【０３２３】

本明細書で使用される場合、「溶解力」という用語は、細胞を破壊するために使用される物理的活動を指す。溶解力には、機械力、音力、重力、光学力、電気力等が含まれ得るが、これらに限定されない。機械力によって行われる細胞溶解を、本明細書では「機械的溶解」と称する。機械的溶解に従って使用できる機械力には、高せん断流体力が含まれ得る。

【０３２４】

いくつかの態様において、溶解せずにＡＡＶ粒子を収穫する方法が、効率的かつスケーラブルなＡＡＶ粒子の生成に使用され得る。非限定的な例として、ＡＡＶ粒子は、米国特許出願２００９０２７５１０７号に記載されるように、ヘパリン結合部位を欠くＡＡＶ粒子を培養し、それによってＡＡＶ粒子を細胞培養物の上清に通過させ、培養物から上清を収集し、上清からＡＡＶ粒子を分離することによって生成することができる。

【０３２５】

ＡＡＶ精製

ウイルス粒子を含む細胞溶解物は、清澄化に供され得る。清澄化とは、細胞溶解物からウイルス粒子を精製する際に行われる最初の手順を指す。清澄化は、より大きな不溶性の破片を除去して、溶解物をさらなる精製のために準備するのに役立つ。清澄化ステップには、遠心分離及び濾過が含まれ得るが、これらに限定されない。

【０３２６】

いくつかの態様において、ＡＡＶ粒子は、１つまたは複数のクロマトグラフィー方法によって、清澄化された細胞溶解物から精製され得る。クロマトグラフィーとは、混合物から１つ以上の要素を分離するための、当該技術分野で周知のさまざまな方法を指す。このような方法には、イオン交換クロマトグラフィー（例えば、カチオン交換クロマトグラフィー及びアニオン交換クロマトグラフィー）、免疫親和性クロマトグラフィー及びサイズ排除クロマトグラフィーが含まれるが、これらに限定されない。

【０３２７】
上記で引用したすべての参考文献、及び本明細書で引用したすべての参考文献は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。
【０３２８】
下記の実施例は、例示として示されており、限定するために示されているものではない。
【０３２９】
実施例
本開示を、その特定の態様を参照して説明してきたが、当業者は、本開示の真の主旨及び範囲から逸脱することなく、さまざまな変更が行われてもよく、均等物が置き換えられてもよいことを理解されたい。また、特定の状態、材料、物質の組成、プロセス、単数または複数のプロセスステップを、本開示の目的、主旨、及び範囲に適応させるために、多くの修正が行われてもよい。すべてのそのような修正は、本開示の範囲内であることが意図される。
【０３３０】
実施例１
ファブリー病に罹患した成人におけるＡＡＶ－００１の臨床評価
ＡＡＶ－００１を、ファブリー病に罹患した対象におけるｒＡＡＶ２／６ヒトα－Ｇａｌ Ａ遺伝子療法であるＡＡＶ－００１の安全性及び寛容性を評価するために、第１／２相、多施設、非盲検、単回投与、用量範囲試験で評価した。試験デザインを、図２に提示する。
【０３３１】
この試験の主な目的は、ＡＡＶ－００１の安全性及び寛容性を評価することである。この試験の二次目的は、α－Ｇａｌ Ａの薬力学及び血漿中のその基質の存在を経時的に評価すること、ＥＲＴを受けている対象に必要なＥＲＴ投与に対するＡＡＶ－００１の影響を評価すること、腎機能と心臓機能に与えるＡＡＶ－００１の影響を評価すること、ファブリー病に及ぼすＡＡＶ－００１の臨床的影響（生活の質（ＱｏＬ）を含む）を評価すること、及びｒＡＡＶ２／６ベクターＤＮＡの排出を経時的に評価することである。この試験のさらなる目的は、α－Ｇａｌ Ａの薬力学及び尿及び組織中のその基質の存在を経時的に評価すること、α－Ｇａｌ Ａの薬物動態を経時的に評価すること、及びｒＡＡＶ２／６及びα－Ｇａｌ Ａに対する免疫応答を評価することである。
【０３３２】
試験評価
評価には、治療関連有害事象（ＴＥＡＥ）の発生、定期的な血液学、化学、肝機能、バイタルサイン、ＥＣＯ及びＥＣＨＯ、連続アルファフェトプロテイン（ＡＦＰ）検査、及び肝臓腫瘤の形成を監視するための肝臓のＭＲＩ（または同等の画像）が含まれる。さらに、１年間の特定の時点での、血漿中のα－Ｇａｌ Ａ活性、血漿中のＧｂ３レベル、血漿中のＬｙｓｏ－Ｇｂ３レベル、ＦＡＢＲＡＺＹＭＥ（登録商標）（または同等のＥＲＴ）注入の頻度、血中クレアチニンレベルから計算した推算糸球体濾過量（ｅＧＦＲ）、心臓磁気共鳴画像法（ＭＲＩ）で測定した左室質量、尿中の総タンパク質及びアルブミンとクレアチニンとの比、組織で測定したα－Ｇａｌ Ａ及びＧｂ３レベル、組織及び尿で測定した基質レベル、尿中の腎機能のバイオマーカー、Ｂｒｉｅｆ Ｐａｉｎ Ｉｎｖｅｎｔｏｒｙ（ＢＰＩ）で測定した神経障害性疼痛、鎮痛剤の使用頻度、ＧＩ症状評価スケールで測定した胃腸（ＧＩ）症状、Ｍａｉｎｚ Ｓｅｖｅｒｉｔｙ Ｓｃｏｒｅ Ｉｎｄｅｘ（ＭＳＳＩ）、ＳＦ－３６質問票で測定した患者報告による生活の質（ＱＯＬ）結果、ｒＡＡＶ２／６及びα－Ｇａｌ Ａに対する免疫応答についてベースラインからの変化が測定され得、ｒＡＡＶベクターのクリアランスは、血液、血漿、唾液、尿、便、精液中のベクターゲノムのレベルによって測定することができる。
【０３３３】
標的対象集団及び適格基準

古典型ファブリー病に罹患した１８歳以上の男性及び女性対象。対象は、本明細書に記載されるように、酵素補充療法（ＥＲＴ）レジメンを受けているか、またはＥＲＴナイーブであるか、またはＥＲＴ疑似ナイーブであり、過去６か月間にＥＲＴ治療を受けていないかであり得る。

【０３３４】

対象の包含基準は以下を含む、（１）血漿または白血球のいずれかのα－Ｇａｌ　Ａ活性が５％未満と定義される古典型ファブリー病の診断が記録されており、古典型ファブリー病の以下の症状特性の１つ以上を有する対象：ｉ）渦巻状角膜混濁、ｉｉ）肢端感覚異常、ｉｉｉ）無汗症、ｉｖ）被角血管腫（臍周囲被角血管腫のクラスター化が記録されている場合、これは古典型ファブリー病の特徴的な徴候であるため、この症状だけで十分である）、（２）ＥＲＴ（１４日間［±１日］レジメン）を受けている対象、またはＥＲＴを受けているがα－Ｇａｌ　Ａ活性が５％超であるか、ＥＲＴ－ナイーブであるか、またはＥＲＴ－疑似－ナイーブであり、同意前の過去６か月間にＥＲＴ治療を受けていない対象、（３）ＥＲＴを受ける対象の場合、ＥＲＴは、安定用量（同意前の６か月間にＥＲＴの投与を４回以上欠かしていないと定義）及びレジメン（登録前の少なくとも３か月間は１４日±１日）で投与されている必要がある、（４）古典型ファブリー病を示す変異（すなわち、国際ファブリー病遺伝子型表現型データベース（ｄｂＦＧＰ）などのデータベースにリストされている）を有する対象、（５）トラフ時のα－Ｇａｌ　Ａ活性がアッセイの正常範囲の下限を下回る対象、（６）＞約１８歳の対象、（７）性的に成熟した対象は、発現構築物の投与時から、治験治療の施行後に少なくとも３回連続して精液サンプルがＡＡＶ陰性となり、かつ治験治療施行後少なくとも９０日間までは、コンドームを使用し、精子提供を控えることに同意する必要がある、（８）対象の署名入りの書面によるインフォームドコンセント。

【０３３５】

診断用α－Ｇａｌ　Ａ活性レベルが記録されていない対象については、血液サンプルを採取してα－Ｇａｌ　Ａ活性レベル（血漿及び／または白血球中）を測定する。ＥＲＴを受けている対象の場合、この採血は最後のＥＲＴ注入（トラフ）、ｉから少なくとも１３日後に行われる。対象のα－Ｇａｌ　Ａ活性レベルが５％超であり、対象がＥＲＴを受けている場合、この酵素活性レベルは、最後のＥＲＴ注入からの残留α－Ｇａｌ　Ａ活性によるものである可能性がある。この場合、以下の３つの基準が満たされた場合に、古典型ファブリー病の診断が確定する。

【０３３６】

ａ．古典型ファブリー病の以下の兆候　的特徴のうち２つ以上が記録されている：渦巻状角膜混濁、肢端感覚異常、無汗症、被角血管腫。臍周囲被角血管腫のクラスター化が記録されている場合、これは古典型ファブリー病の特徴的な徴候であるため、この症状だけで十分である。

ｂ．古典型ファブリー病を示す変異（すなわち、ｗｗｗ．ｄｂｆｇｐ．ｏｒｇなどのデータベースに記載されているもの）；及び

ｃ．トラフ時のα－Ｇａｌ　Ａ活性が、検査の正常範囲の下限値を下回っている。

【０３３７】

ファブリー病の遺伝子配列決定は、対象のα－Ｇａｌ　Ａ遺伝子に変異があるかどうかを確認するためにスクリーニング時に実施した。アッセイは、血液または唾液サンプルで実施した。利用可能な場合は、試験前に得られた遺伝子配列決定結果を使用することができる。スクリーニングでは、ＨＩＶ、ＨＡＶ、ＨＢＶ、ＨＣＶ、及びＴＢの検査を行った。ＨＩＶと診断された対象、または活動性ＨＡＶ、ＨＢＶ、ＨＣＶ、またはＴＢ感染の証拠がある対象は、この試験への参加資格を有し得ない。

【０３３８】

ＡＡＶ６に対する中和抗体のレベルは、対象のＡＡＶ６に対する既存の免疫応答を評価するためにスクリーニング時に測定した。ＡＡＶ６に対する既存の中和抗体が高い対象は、この試験への参加資格を有し得ない。スクリーニングから３か月以内に投与が完了しな

い場合は、ＡＡＶ６に対する血清中和アッセイを繰り返す。
【０３３９】
利用可能な場合は、試験前に採取された血漿または白血球中の診断用α－Ｇａｌ　Ａ活性レベルの結果が使用される。診断用α－Ｇａｌ　Ａ活性レベルが記録されていない対象については、血液サンプルを採取してα－Ｇａｌ　Ａ活性レベル（血漿及び／または白血球中）を測定する。ＥＲＴを受けている対象の場合、この採血は最後のＥＲＴ注入から少なくとも１３日後に行われる。
【０３４０】
対象の全般的な健康状態と試験の適格性を評価するために、胸部Ｘ線写真（胸部ＰＡレントゲン写真としても知られる）を得ることができる。医学的に指示がない限り、試験への登録から６か月以内に撮影された胸部Ｘ線写真を使用して対象の適格性が判断される。各対象に対して身体検査が行われ、最低限、一般的な外観、頭部、眼、耳、鼻、喉（ＨＥＥＮＴ）のほか、心臓血管系、皮膚科、呼吸器系、消化器系、筋骨格系、神経系の検査が含まれる。
【０３４１】
対象除外基準には、次の対象が含まれ得る：（１）治験責任医師及びメディカルモニターの判断によるＥＲＴに応答しないことが判明している（例えば、ＥＲＴで基質レベルが低下した記録がない）、（２）現在ミガラスタット（Ｇａｌａｆｏｌｄ（商標））による治療を受けている、またはインフォームドコンセントの３か月以内に事前に治療を受けている、（３）ＡＡＶ（例えば、ＡＡＶ６）に対する中和抗体反応が陽性である、（４）治験責任医師またはメディカルモニターの判断による、治験の観察期間中に安全性または有効性の評価を損なうと予想される併発疾患がある、（５）ｅＧＦＲが６０ｍｌ／分／１．７３ｍ^{2}未満である、（６）ニューヨーク心臓協会クラスＰＩ以上である、（７）定量的ポリメラーゼ排出反応（ｑＰＣＲ）によって測定されたＡ型肝炎ウイルス（ＨＡＶ）、Ｂ型肝炎ウイルス（ＨＢＶ）、Ｃ型肝炎ウイルス（ＨＣＶ）（ＨＣＶ－ＤＮＡ陰性）、もしくはヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）の活動性感染症、または結核（ＴＢ）の活動性感染症に罹患している、（８）インフォームドコンセントの６か月以内に、二次性脂肪肝、非アルコール性脂肪肝炎（ＮＡＳＨ）、肝硬変、胆管炎、胆道疾患などの肝疾患の病歴がある（ジルベール症候群；循環血中ＡＦＰの異常を除く）、（９）ＥＲＴを受けている対象の場合、同意前６か月以内に、治験責任医師及びメディカルモニターの判断によるＥＲＴに対する有意な注入反応として現れる、ＥＲＴ治療に対する最近または継続的な過敏症反応がある、（１０）次の１つ以上によって確認される肝炎マーカーまたは明白または潜在的な肝機能障害の原因：（ｉ）アルブミン＜３．５ｇ／ｄＬ、（ｉｉ）総ビリルビン＞正常上限（ＵＬＮ）かつ直接ビリルビン＞０．５ｍｇ／ｄＬ、（ｉｉｉ）アルカリホスファターゼ（ＡＬＰ）＞２．０ｘＵＬＮ。（ｉｖ）アラニンアミノトランスフェラーゼ（ＡＬＴ）＞１．５ｘＵＬＮ、（１１）全身性（ＩＶまたは経口）免疫調節剤またはステロイドを現在または過去６か月以内に使用したことがある（喘息や湿疹などの局所治療は許可される）（全身性ステロイドの随時使用は、医療モニターとの協議後に許可される場合がある）、（１２）免疫抑制のためのコルチコステロイドの使用が禁忌である、（１３）非黒色腫皮膚がん以外の悪性腫瘍の病歴がある、（１４）アルコールまたは薬物乱用の病歴がある、（１５）同意前の過去３か月以内に、以前の介入薬または医療機器試験に参加したことがある（ＲａｌＬＲｏＡＤ試験のような埋め込み型ループレコーダーを除く）、（１６）以前に遺伝子療法製品による治療を受けたことがある、（１７）ＡＡＶ－００１製剤の成分に対する過敏症を認識している、（１８）治験責任医師またはメディカルモニターの判断による、対象が試験への参加に不適切となるその他の理由。
【０３４２】
ベースライン期間
ベースライン評価及び手順を、ＡＡＶ－００１注入前の１２週間以内に実施した。ＥＲＴを受けている対象では、前回のＥＲＴ投与後１４日（±１日）と定義されるＥＲＴトラフレベルで、α－Ｇａｌ　Ａレベル、Ｇｂ３、ｌｙｓｏ－Ｇｂ３を含む評価が行われる。

２つの異なる日の午前中に、ベースラインで２つのサンプルを採取する。ＥＲＴを受けていない対象の場合、ベースラインで２回、１４日（±１日）間隔を空けて２つのサンプルを採取する。

【０３４３】

併用薬

肝毒性の可能性があるものを除き、すべての薬剤が許可され得る。ジクロフェナク、アミオダロン、クロイプロマジン、フルコナゾール、イソニアジド、リファンピシン、バルプロ酸、高用量アセトアミノフェン（４～８グラム／日）などの肝毒性薬剤、及びセネシオ／クロタルアリア、茶に含まれるジャーマンダー、チャパラル、Ｊｉｎ　ｂｕ　ｈｕａｎ、Ｍａ－ｈｕａｎｇ（中国ハーブ）等の肝毒性ハーブサプリメントは、試験期間中は摂取するべきではない。ＥＲＴを受けている対象について、ＥＲＴは、安定用量（同意前の６か月間にＥＲＴの投与を４回以上欠かしていないと定義）及びレジメン（登録前の少なくとも３か月間は１４日±１日）で投与されている必要がある。対象は、ＥＲＴの投与を中止しない限り、標準治療に従って、試験期間中、安定用量とレジメン（１４日間±１日）でＥＲＴを継続して受ける必要がある。

【０３４４】

用量コホート

寛容かつ安全であると考えられる用量が、用量拡大コホートで利用されるであろう。用量漸増が完了した後、用量拡大を開始し、用量拡大コホートごとに最大６人の対象が登録され、対象には、α－Ｇａｌ　Ａ抗体陽性の古典型ファブリー病患者、α－Ｇａｌ　Ａ抗体陰性の古典型ファブリー病患者、女性患者（女性コホート）、及び腎臓（腎臓コホート）と心臓（心臓コホート）の包含基準と除外基準を満たす患者を含む。安全性に関する新たな考慮事項が生じた場合、拡大コホートの用量は再評価され得る。

【０３４５】

抗α－Ｇａｌ　ＡＡｂ陽性コホート：α－Ｇａｌ　Ａ抗体陽性の古典型ファブリー病に罹患した男性対象が最大６名登録される。

【０３４６】

抗α－Ｇａｌ　ＡＡｂ陰性コホート：α－Ｇａｌ　Ａ抗体陰性の古典型ファブリー病に罹患した男性対象が最大６名登録される。

【０３４７】

女性コホート：古典型ファブリー病に罹患した女性対象が最大６名登録される。

【０３４８】

腎臓コホート：線形負のｅＧＦＲ勾配（スクリーニング訪問時に取得した値を含む、１８か月以内の少なくとも３回の過去の血清クレアチニン値から推定）が≧２ｍＬ／分／１．７３m^2／年の症状のあるファブリー病に罹患した男性または女性の対象が最大６名登録される。

【０３４９】

心臓コホート：２Ｄ心エコー検査またはＣＭＲ（拡張期終末期中隔及び後壁の厚さが１２ｍｍ以上）で左室肥大（ＬＶＨ）がみられ、ＬＶＨの他の説明がないか、２Ｄひずみ心エコー検査での全体縦方向ひずみの減少、またはＣＭＲでのネイティブＴ１マッピングの低下など、病気の進行を示す心臓の変化がみられない、心臓障害を伴う症状のあるファブリー病の男性または女性の対象が最大６名登録される。

【０３５０】

スクリーニング前の６か月間に心血管事象を経験した対象は、治験責任医師の裁量により除外される場合がある。

【０３５１】

開始用量は５．０Ｅ＋１２ｖｇ／ｋｇであり、次の用量レベルへの用量漸増は、以前のコホート及び／またはｉｎ　ｖｉｖｏ　ｒＡＡＶ２／６ベースの療法を使用する他の臨床試験のデータを確認し、必要に応じて外部の専門家、試験メディカルモニター、及び治験責任医師で構成される安全性モニタリング委員会（ＳＭＣ）の推奨に基づいて行われる。

本明細書で使用される場合、ＳＭＣメンバーは、適切な医学的及び科学的専門知識を有しており、試験の安全性監視を提供する。さらに、投与された対象の観察された酵素活性レベル及び安全性プロファイルに応じて、ＳＭＣは、コホート３の用量を５倍に増やす代わりに、コホート３で中間用量レベル３．０Ｅ＋１３ｖｇ／ｋｇ（コホート２の用量の３倍の増加）に用量漸増することを推奨することができる。プロトコールでは、コホート４の追加用量として５．０Ｅ＋１３ｖｇ／ｋｇの追加用量レベルを含めることも許可される。ただし、対象に投与される用量は、大幅な修正なしに５．０Ｅ＋１３を超えることはない。用量コホートを表２に示す。（図３も参照のこと）

表２．コホート別の用量

【表３】

コホート番号	総ｒＡＡＶ＊用量（ベクターゲノム［ｖｇ］／ｋｇ）
1	５ｅ１２ｖｇ／ｋｇ
2	１．０ｅ１３ｖｇ／ｋｇ
3	３．０ｅ１３ｖｇ／ｋｇ
4	５．０ｅ１３ｖｇ／ｋｇ

＊ｒＡＡＶ－組み換えアデノ随伴ウイルス

【０３５２】

治療計画

すべての包含／除外基準を満たす＞１８歳の対象が登録される。用量コホートのそれぞれに少なくとも２人の対象が割り当てられ、ＳＭＣのレビュー後に、いずれのコホートもさらに４人の成人対象を増やし、合計最大１８人の対象にする可能性がある。発現ベクターを、静脈内注入により投与した。各コホート内では、治療は段階的に行われるため、後続の対象は、前の対象に投与されてから少なくとも約２週間経過するまでは注入はされない。次の用量レベルへの用量漸増は、前のコホートの最後の対象に投与されてから少なくとも約４週間経過し、前のコホート全体の安全性データがＳＭＣによって審査されるまでは実行できない。

【０３５３】

試験登録前にＥＲＴを受けた対象は、試験期間中もＥＲＴを受け続け、ＥＲＴを中止しない限り、標準治療に従って現在の用量とレジメン（１４日±１日）を維持する必要がある。ＥＲＴを受けている対象の場合、酵素及び基質レベルのベースライン試験は、前回のＥＲＴ注入から１４日（＋／－１日）後と定義されるトラフの朝に２回別々にサンプルを採取できるように調整される。スクリーニング期間中に事前に追加の時点が取られているため、遺伝子療法施行前のトラフにおけるα－Ｇａｌ Ａの残留レベルを評価するための時点が３つある。これら３つのサンプルを、酵素のレベルに影響を与える可能性のある非特異的な要因を最小限に抑えるために、トラフ時に採取され、好ましくは１日の同じ時間（例えば、朝）に採取する。

【０３５４】

ｒＡＡＶカプシドタンパク質に対する潜在的な免疫応答を最小限に抑え、肝臓損傷の場合に導入遺伝子発現の喪失を回避し、肝機能を維持するために、発現ベクター注入の約２日前から予防的にプレドニゾンまたは同等のコルチコステロイドを投与し、最大約２０週間かけて漸減させることができる。

【０３５５】

発現ベクターは、シリンジポンプまたはＩＶ輸液ポンプを使用して注入することができる（Ｓｔｕｄｙ Ｐｈａｒｍａｃｙ Ｍａｎｕａｌを参照）。総量は、対象のコホート割り当てとベースライン時の体重（ｋｇ）によって異なるであろう。発現ベクターは、対象が病院または急性期治療施設にいる間に、対象のバイタルサイン（体温、心拍数、呼吸数

、血圧）をモニタリングしながら、制御された速度でＩＶカテーテルを介して投与することができ、対象は、発現ベクターの注入が完了した後、少なくとも２４時間は観察のために留まることができる。すべてのバイタルサインが安定し、有害事象（ＡＥ）が解消された場合、または治験責任医師の判断により対象が安定していると判断された場合、対象は退院することができる。

【０３５６】

図４Ａは、カットオフ日時点での最初の２つの用量コホート（０．５ｅ１３ｖｇ／ｋｇ及び１ｅ１３ｖｇ／ｋｇ）の４人の患者から評価された安全性データを示す。ステロイド治療を必要とする肝酵素の上昇はなかった。試験中止、入院、または死亡につながる有害事象（ＡＥ）はなかった。

【０３５７】

図４Ｂは、カットオフ日時点での用量コホート１～３（０．５ｅ１３ｖｇ／ｋｇ、１．０ｅ１３ｖｇ／ｋｇ、及び３．０ｅ１３ｖｇ／ｋｇ）の５人の患者から評価した安全性データを示す。ステロイド治療を必要とする肝酵素の上昇はなかった。試験中止、入院、または死亡につながる有害事象（ＡＥ）はなかった。

【０３５８】

図４Ｃは、カットオフ日時点での用量コホート１～４（０．５ｅ１３ｖｇ／ｋｇ、１．０ｅ１３ｖｇ／ｋｇ、３．０ｅ１３ｖｇ／ｋｇ及び５．０ｅ１３ｖｇ／ｋｇ）の５人の患者から評価した安全性データを示す。ステロイド治療を必要とする肝酵素の上昇はなかった。試験中止、入院、または死亡につながる有害事象（ＡＥ）はなかった。

【０３５９】

ＡＡＶ－００１の注入後、８日目、２週目、４週目、６週目、８週目、１２週目、１６週目、２０週目、２４週目、２８週目、３２週目、３６週目、４０週目、４４週目、４８週目、５２週目に治験来院が実施され得る。２８週目、３２週目、４０週目、４４週目、４８週目の治験来院は、臨床現場での評価を必要としない評価があるため、リモートで実施することができる。ＡＥ及び併用薬の評価は、電話によりリモートで実施することができる。

【０３６０】

対象がプレドニゾンまたは同等のコルチコステロイドを服用している間、発現ベクター注入後の最初の約２０週間、ＡＡＶ媒介免疫原性をモニタリングするために肝臓検査（ＡＳＴ、ＡＬＴ、ＧＯＴ、総ビリルビン及び直接ビリルビン、ＡＬＰ、ＬＤＨ、アルブミン、総タンパク質レベル）が週２回実施され、これは遠隔で実施され得る。肝臓検査用の血液サンプルを、２日目及び８日目の来院時に採取できる最初の１週間を除いて、可能な場合は２～４日間隔で採取する。肝臓検査は、免疫抑制剤の投与を中止してから４週間は毎週（２１週目～２４週目）実施し、その後は治験来院に合わせて毎月（２８週目～５２週目）実施され得る。

【０３６１】

プレドニゾンまたは同等のコルチコステロイドによる前治療にもかかわらず、ＡＬＴ上昇の証拠がある場合は、プレドニゾンまたは同等のコルチコステロイドの投与を継続することができる（プレドニゾン１ｍｇ／ｋｇ［最大６０ｍｇ］または同等の量を経口または静脈内投与し、及び／またはケースバイケースで増量し、肝酵素が正常化するまで週２回肝酵素を評価し、その後はプロトコールに従う）。

【０３６２】

用量漸増

各コホートの最初の２人の対象については、前の対象が少なくとも２週間観察されるまで各後続の対象に注入が行われないよう、治療が段階的に行われる。次の用量レベルへの用量漸増は、前のコホートの最後の２人の対象に投与されてから少なくとも４週間経過し、前のコホートの２人の安全性データがＳＭＣによって審査されるまでは実行できない。いずれかの停止規則が満たされた場合、投与及び用量漸増を一時停止することができる。

【０３６３】

ＥＲＴ中止
　ＡＡＶ－００１での治療により、ヒトα－Ｇａｌ　ＡのｃＤＮＡをコードするｒＡＡＶベクターを使用することにより、ファブリー病対象の長期的、肝臓特異的なａ－Ｇａｌ　Ａ発現がもたらされ、ＥＲＴの必要性がなくなる可能性がある。ＥＲＴの中止を受ける対象は、ＡＥ、バイタルサイン、安全性検査値の変化、及びベースラインと比較したα－Ｇａｌ　Ａ及び基質のレベルについて厳重に監視される。標的肝細胞の形質導入に十分な時間を確保するため、ＥＲＴの中止は４週間後に検討すべきである。ＥＲＴを中止する対象は、疲労、神経障害性疼痛などの臨床症状、ＡＥ、バイタルサイン、安全性検査（肝機能検査、α－Ｇａｌ　Ａ及び基質（Ｇｂ３及びＬｙｓｏ－Ｇｂ３）のレベルなど）のベースラインとの比較における変化について厳重に監視される。ＥＲＴの中止は、スポンサーと協議した後、治験責任医師の裁量で決定されてもよく、以下の基準を満たす意思のある対象に対して検討される：
　（１）ＡＡＶ－００１の投与後＞４週間経過していること、
　（２）医学的に安定しており、治験責任医師の判断によりＥＲＴの一時的な中止に耐えられること、
　（３）ＥＲＴ中止フォローアップ来院までの安全性監視の強化と追加の臨床検査に同意すること、
　（４）ＥＲＴ中止フォローアップ来院後にＥＲＴを再開する必要がないこと。
　ただし、ＥＲＴは臨床状況または治験責任医師の判断に基づいていつでも再開され得る。

【０３６４】
　ＥＲＴの中止は、以前に成功しなかった場合、対象が同意し、前回の試行から少なくとも１２週間経過した場合に限り、治験責任医師の裁量でスポンサーと協議した上で、繰り返すことができる。

【０３６５】
ＥＲＴ中止モニタリング（±２日間）
　ＥＲＴ中止モニタリング来院は、ＥＲＴ中止来院後の最初の４週間は毎週行われ、その後、ＥＲＴ中止来院後の最後の８週間はＥＲＴ中止フォローアップ来院まで隔週で行われる。研究負担を軽減するために、可能な限り、ＥＲＴ中止モニタリング来院は、定期的に予定された来院と組み合わせるべきである。ＥＲＴ中止モニタリング来院は、リモートで実施することができる。

【０３６６】
ＥＲＴ中止フォローアップ（ＥＲＴ中止後最大１２週間）
　ＥＲＴ中止フォローアップ来院はＥＲＴ中止来院後１２週目に行われるが、臨床的に必要な場合は、治験責任医師の裁量でより早く行われる可能性がある。臨床的に必要な場合、ＥＲＴは臨床状況または治験責任医師の判断に基づいていつでも再開され得る。

【０３６７】
試験終了の来院及び長期フォローアップ調査
　最終評価のために、試験終了（ＥＯＳ）来院を５２週目に実施する。ＥＯＳ来院時に、対象は別の長期フォローアップ調査に参加するよう奨励され、最大４年間さらにフォローアップ調査が行われる。

【０３６８】
試験期間
　試験参加期間は、対象ごとに最大７６週間であってもよく、スクリーニングに最大８週間、ベースラインに最大１２週間、投与後のフォローアップ調査に５２週間と分けられる。集積期間は９～１２か月を予定している。

【０３６９】
安全性モニタリング委員会及び停止規則
　以下の基準のいずれかが満たされる場合、試験への登録を一時停止し、ＳＭＣが適切な処置方針について勧告を行うために招集され得る：（１）発現ベクター製剤との因果関係

が少なくとも合理的に考えられるグレード３以上の有害事象が１件発生。（２）発現ベクター製剤との因果関係が少なくとも合理的に考えられる重篤な有害事象（ＳＡＥ）の発生、（３）ヒト対象の死亡、（４）悪性腫瘍の発生。

【０３７０】

試験は、以下のいずれかの理由によっても中止され得る：（１）スポンサーがＳＭＣまたは規制当局と協議の上、試験の継続により何らかの理由で対象の安全性が損なわれる可能性があると判断した場合、（２）スポンサーがＡＡＶ－００１の開発の中止を決定した場合。

【０３７１】

すべてのデータを評価し、試験に変更を加える必要があるかどうか、あるいはデータ収集を継続するか停止するかが決定される。中止基準が満たされた場合、大幅な修正が規制当局に審査のために提出され、その修正が施設の治験審査委員会（ＩＲＢ）／独立倫理委員会（ＩＥＣ）または同等の機関によって承認されるまで、その用量レベルまたはそれ以上の用量で対象への投与は行われない。

【０３７２】

実施例２

血漿α－Ｇａｌ　Ａ活性及びＬｙｓｏ－Ｇｂ３

ファブリー病に罹患した成人におけるＡＡＶ－００１治療の効果を試験するために、４つの用量コホート（コホート１（ｎ＝２；患者１及び２）；０．５ｅ１３ｖｇ／ｋｇ、コホート２（ｎ＝２；患者３及び４）；１ｅ１３ｖｇ／ｋｇ、コホート３（ｎ＝３；患者５、６、及び７）；３．０ｅ１３ｖｇ／ｋｇ、コホート４（ｎ＝２；患者８及び９）；５．０ｅ１３ｖｇ／ｋｇ）にわたって９人の患者（患者１、患者２、患者３、患者４、患者５、患者６、患者７、患者８、及び９）の血漿α－Ｇａｌ　Ａ活性及びｌｙｓｏ－Ｇｂ３を評価した。患者１～９のベースライン特性を図３に示す。

【０３７３】

血漿α－Ｇａｌ　Ａ活性

Ｋ２－ＥＤＴＡ血漿中のα－Ｇａｌ　Ａ活性は、人工基質である４－メチルウンベリフェリルα－Ｄガラクトピラノシド（４－ＭＵ－α－Ｇａｌ）の分解によって生じる４－メチルウンベリフェロン（４－ＭＵ）生成物を３７℃で測定することによって決定し、以下に示す：

４－ＭＵ－α－Ｇａｌ（基質、非蛍光）＋α－Ｇａｌ　Ａ→４－ＭＵ（蛍光）

活性は、３時間の反応時間中に生成された４－ＭＵ（ｎｍｏｌ／ｍＬ）の量で表され、ｎｍｏｌ／ｈｒ／ｍＬで示される。

【０３７４】

α－Ｇａｌ　Ａ血漿活性と倍数変化の正常男性範囲

α－Ｇａｌ　Ａの正常男性範囲は、検証済みの血漿α－Ｇａｌ　Ａ活性アッセイを使用して３時間のインキュベーション時間で４０人の健康な男性ドナーから決定され、ｎｍｏｌ／ｈｒ／ｍＬで表される。男性の正常範囲：２．４５～１１．３７ｎｍｏｌ／ｈ／ｍＬ、平均５．７０ｎｍｏｌ／ｈ／ｍＬ。平均に対する倍数変化は、５．７０ｎｍｏｌ／ｈ／ｍＬで決定された平均正常範囲を基準として計算した。

【０３７５】

ｌｙｓｏ－Ｇｂ３の正常男性範囲：

検証済みＬＣ－ＭＳ／ＭＳ及びｌｙｓｏ－Ｇｂ３－ｄ７を内部標準として使用し、Ｋ２－ＥＤＴＡ血漿中のｌｙｓｏ－Ｇｂ３の正常男性範囲を４０人の健康な男性ドナーから決定した。この方法では、ＬＣ－ＭＳ／ＭＳ分析の前にタンパク質沈殿抽出手順を利用した。男性の正常範囲：０．３２３～０．６２５ｎｇ／ｍＬ、平均濃度０．４７３ｎｇ／ｍＬ。

【０３７６】

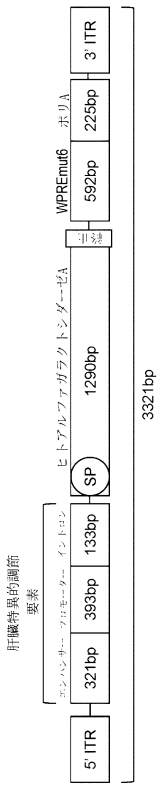
図５Ｃは、データカットオフまでに利用可能なデータを持つすべての対象が、正常レベルを超えるα－Ｇａｌ活性を呈したことを示している。

【０３７７】
バイオマーカーの結果は、カットオフ日時点で４つの用量コホート（０．５ｅ１３ｖｇ／ｋｇ、１．０ｅ１３ｖｇ／ｋｇ、３．０ｅ１３ｖｇ／ｋｇ、及び５．０ｅ１３ｖｇ／ｋｇ）にわたる８人の対象から評価した。最後の測定ポイントでの倍率変化を計算した。α－Ｇａｌ　Ａ活性は、３時間の反応時間を使用して測定され、ｎｍｏｌ／ｈｒ／ｍＬで表される。患者１、４、５、６、及び７については、これはＥＲＴトラフでサンプルを採取した。正常範囲及び平均は、健康な男性個人に基づいて決定した。図５Ｃは、対象１～８のデータカットオフを通じて、治療された最初の２人の対象については最大１８か月にわたってα－Ｇａｌ　Ａ活性の上昇が観察されたことを示している。対象７と８については、２週目にα－Ｇａｌ　Ａ活性が正常範囲内である。対象１と４はＥＲＴを中止した。
【０３７８】
平均正常値の最大２１倍の活性レベルが観察された。
【０３７９】
図６Ａは、患者１が正常レベルを超えるα－Ｇａｌ活性を呈し、それが試験終了までの１年間にわたって持続したことを示している。Ｌｙｓｏ－Ｇｂ３は、試験終了時までベースラインの１０％以内に留まった。図６Ｂは、患者１が正常レベルを超えるα－Ｇａｌ活性を呈し、それが４８週間にわたって持続したことを示している。図６Ｃは、患者１が正常レベルを超えるα－Ｇａｌ活性を呈し、それが１８か月間にわたって持続したことを示している。左室肥大（下垂性心室肥大）は観察期間では増加し、１年間の治療後のＭＲＩでは安定した。血漿ｌｙｓｏ－Ｇｂ３の低いベースラインレベルは経時的に安定を維持した。患者１は、下肢浮腫及び発汗能力の改善を報告した。患者１は、長期フォローアップ調査（さらに４年間、３か月ごとのフォローアップ調査）に移行した。
【０３８０】
図６Ｄは、患者２が正常レベルを超えるα－Ｇａｌ活性を呈し、それが４８週間にわたって持続したことを示している。図６Ｅは、患者２が正常レベル以上のα－Ｇａｌ活性を呈し、それが１年間にわたり持続したことを示している。図６Ｆは、患者２が正常レベル以上のα－Ｇａｌ活性を呈し、それが１８か月間にわたって持続したことを示している。患者のベースラインの軽度の両室拡張は、１年後のＭＲＩで改善した。血漿ｌｙｓｏ－Ｇｂ３の低いベースラインレベルは経時的に安定を維持した。患者２は、発汗能力の改善を報告した。患者２は、長期フォローアップ調査（さらに４年間、３か月ごとのフォローアップ調査）に移行した。
【０３８１】
図６Ｇは、患者３が正常レベルを超えるα－Ｇａｌ活性を呈し、それが２８週目の最後の測定ポイントまで持続したことを示している。患者２も、ベースラインから２８週目までにｌｙｓｏ－Ｇｂ３の約４０％の減少を示した。ＡＡＶ－００１投与後１２週間にわたりｌｙｓｏ－Ｇｂ３の減少が観察された。図６Ｈは、患者３が正常レベルを超えるα－Ｇａｌ活性を呈し、それが４０週目の最後の測定ポイントまで持続したことを示している。図６Ｉは、患者３が正常レベルを超えるα－Ｇａｌ活性を呈し、それが５２週目の最後の測定ポイントまで持続したことを示している。患者の心臓ＭＲＩは、ベースライン及び２４週で正常であった。患者の血漿ｌｙｓｏ－Ｇｂ３レベルは、ベースラインで上昇していた。患者３は、投与後ベースラインから１０週間以内に血漿ｌｙｓｏ－Ｇｂ３の約４０％の減少を示し、それが５２週目まで持続した。患者３は、発汗能力の改善を報告した。
【０３８２】
図６Ｊは、患者４が正常レベルを超えるα－Ｇａｌ活性を呈し、それが１２週間にわたって持続したことを示している。図６Ｋは、患者４が正常レベルを超えるα－Ｇａｌ活性を呈し、それが２５週間にわたって持続したことを示している。図６Ｌは、患者４が正常レベルを超えるα－Ｇａｌ活性を呈し、それが４０週間にわたって持続したことを示している。患者４は、ベースラインで軽度のＬＶＨを示した。患者４は、２４週目にＥＲＴを中止した（２週間ごとの投与頻度に基づく）。
【０３８３】

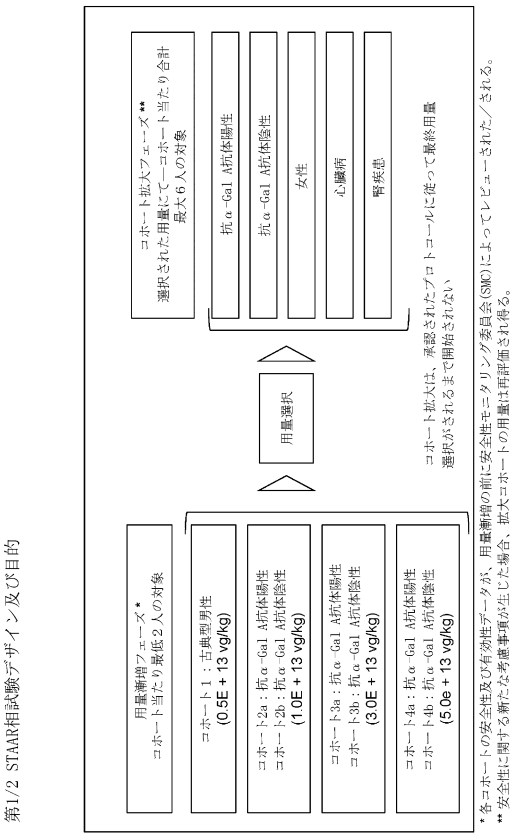
図６Ｍは、患者５が正常レベルを超えるα－Ｇａｌ活性を呈し、それが２４週間にわたって持続したことを示している。患者５はベースラインで軽度のＬＶＨを示した。図６Ｎは、患者６が正常レベルを超えるα－Ｇａｌ活性を呈し、それが１２週間にわたって持続したことを示している。患者６は、ベースラインで軽度のＬＶＨを呈した。図６Ｏは、患者７のベースライン及びα－Ｇａｌの投与データを示している。患者７は、ベースラインで軽度から中等度のＬＶＨを呈した。図６Ｐは、患者８のベースライン及びα－Ｇａｌの投与データを示している。患者８は、ベースラインで正常な心臓ＭＲＩを呈した。図６Ｑは、患者９に、このデータカットの時点でα－Ｇａｌデータがないことを示す。患者９はベースラインで中等度のＬＶＨを呈していた。

【図面】

【図１】



【図２】



【図３】

第1/2 STAAR試験：ベースラインの患者の特徴

	コホート1 (n=2) 0.5e13 vg/kg		コホート2 (n=2) 1.0e13 vg/kg		コホート3 (n=3) 3.0e13 vg/kg			コホート4 (n=2) 5e13 vg/kg		拡大 (n=1) 5e13 vg/kg
	患者 1	患者 2	患者 3	患者 4	患者 5	患者 6	患者 7	患者 8	患者 9	患者 10
年齢（年）	48	25	42	22	39	42	51	49	40	34
ＥＲＴを受けている	はい	いいえ；疑似ナイーブ	いいえ；疑似ナイーブ	はい	はい	はい	はい	いいえ；ナイーブ	いいえ；ナイーブ	いいえ；疑似ナイーブ
血漿 α-Gal A 活性 (nmol/h/mL)	1.54	0.92（モザイク）	LOQより下	2.44	0.85	LOQより下	LOQより下	1.9	LOQより下	LOQより下
血漿 lyso-Gb3 (ng/mL)*	22.1	18.1	83.2	11.1	32.7	1.91	16.4	16.9	213	169
主な疾患の兆候及び症状	・低汗症 ・耳鳴り及びめまい ・左室肥大 ・動悸 ・貧血 ・下肢浮腫	・無汗症 ・耳鳴り ・肢端感覚異常† ・洞性徐脈 ・左室肥大	・低汗症 ・耳鳴り及びめまい ・肢端感覚異常† ・ECG洞不整脈	・低汗症 ・神経障害性疼痛 ・大動脈根拡大	・耳鳴り ・高周波聴力消失 ・肢端感覚異常† ・洞性徐脈	・低汗症 ・耳鳴り ・神経障害性疼痛 ・肢端感覚異常	・うつ病 ・心室頻拍 ・聴力障害 ・神経障害性疼痛	・耳鳴り ・軽い心室肥大 ・肢端感覚異常	・軽い心室壁肥大	・聴力障害 ・耳鳴り ・心室肥大 ・肢端感覚異常
腎機能 (eGFR)*,‡	101.4	111.4	112.9	100	91.5	80	76	42	75	116
既存 α-Gal A 抗体	陽性(1280)	陰性	陽性 (160)	陽性 (320)	陽性 (20480)	陰性	陰性	陰性	陰性	陽性(80)
変異	G261D	C422T	W340R	S297Y	Q283X	D215S	IVS5/ c.801+3A>G	P362L	C422T	N34S

Ａｂ＝抗体、ＣＫＤ－ＥＰＩ＝慢性腎臓病疫学協力、ｃＧＦＲ＝推算糸球体濾過量、ＬＯＤ＝検出限界
*ベースライン値は、AAV-001投与直前の時点とみなされた
†四肢の燃えるような感覚、刺痛、またはしびれ
‡ｅＧＦＲはＣＫＤ－ＥＰＩ（ｍＬ／分／１．７３ｍ²）として測定した。

【図４Ａ】

第1/2 STAAR試験：安全性及び寛容性

優先使用語	コホート1 (0.5e13 vg/kg) (n=2)		コホート2 (1.0e13 vg/kg) (n=2)		全体 (N=4)	
	n	事象	n	事象	n	事象
AAV-001に関連した有害事象	**1**	**3**	**1**	**2**	**2**	**5**
ヘモグロビンの減少	1	1	0	0	1	1
血小板数の増加	1	1	0	0	1	1
発疹	1	1	0	0	1	1
発熱	0	0	1	2	1	2

*試験中止、入院、または死亡につながる有害事象（ＡＥ）はなかった。

【図４Ｂ】

第1/2 STAAR試験：安全性及び寛容性

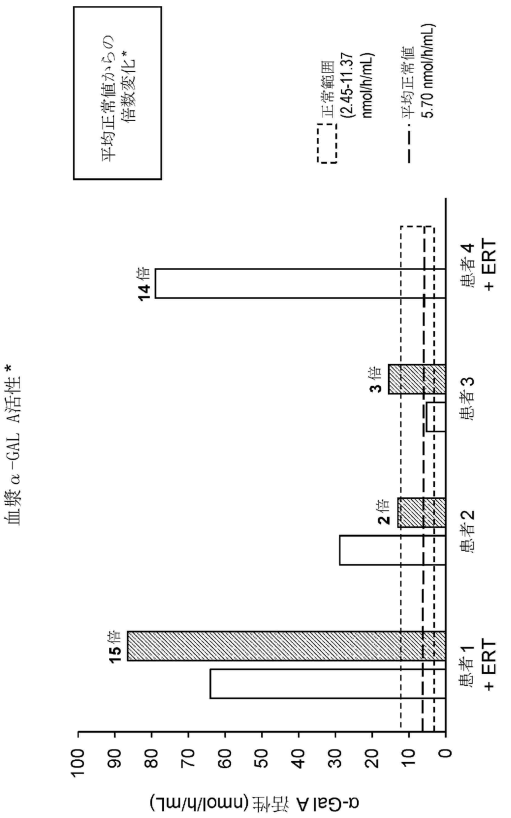
MedDRA優先使用語	コホート1 (0.5e13 vg/kg) (n=2)		コホート2 (1.0e13 vg/kg) (n=2)		コホート3 (3.0e13 vg/kg) (n=1)		全体 (N=5)	
	n	事象	n	事象	n	事象	n	事象
治療関連有害事象（合計）	**1**	**3**	**1**	**2**	**1**	**6**	**3**	**11**
ヘモグロビンの減少	1	1	0	0	0	0	1	1
血小板数の増加	1	1	0	0	0	0	1	1
発疹	1	1	0	0	0	0	1	1
発熱	0	0	1	2	1	1	2	3
頭痛	0	0	0	0	1	1	1	1
筋肉痛	0	0	0	0	1	1	1	1
疲労	0	0	0	0	1	1	1	1
腹痛	0	0	0	0	1	1	1	1
排便回数増加	0	0	0	0	1	1	1	1

【図４Ｃ】

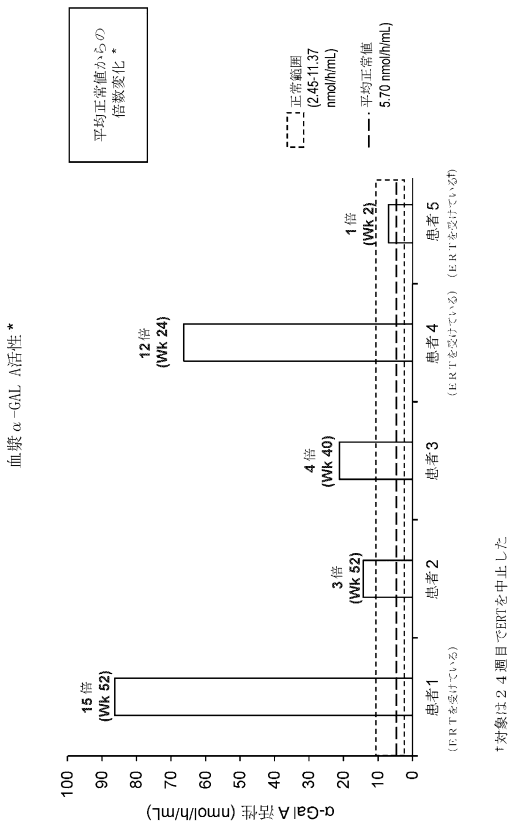
第1/2 STAAR試験：安全性及び寛容性

MedDRA優先使用語	コホート1 (0.5e13 vg/kg) (n=2)		コホート2 (1.0e13 vg/kg) (n=2)		コホート3 (3.0e13 vg/kg) (n=1)		コホート4 (5.0e13 vg/kg) (n=2)		全体 (N=6)	
	n	事象	n	事象	n	事象			n	事象
治療関連有害事象（合計）	**1**	**3**	**1**	**2**	**1**	**6**	**2**	**5**	**5**	**16**
ヘモグロビンの減少	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1
血小板数の増加	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1
発疹	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1
発熱	0	0	1	2	1	1	1	1	3	4
悪寒	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
頭痛	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2
筋肉痛	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1
関節痛	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
疲労	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1
腹痛	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1
排便回数増加	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1
下痢	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1

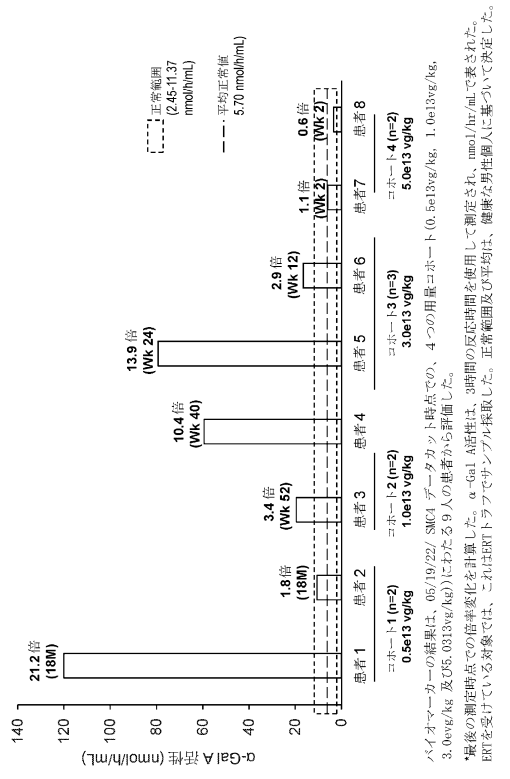
【図５Ａ】



【図５Ｂ】



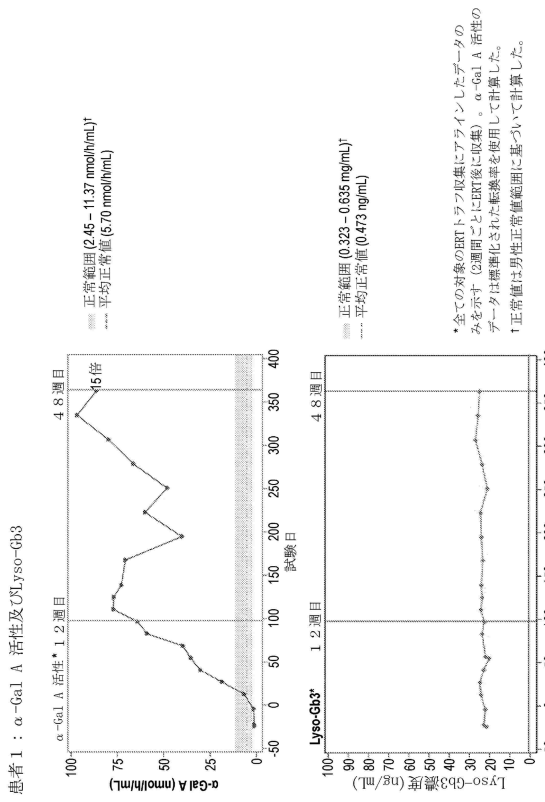
【図５Ｃ】



パイオマーカーの結果は、05/19/22/ SMC4 データカット時点での、4 つの用量コホート (0.5e13vg/kg、1.0e13vg/kg、3.0evg/kg 及び5.0313vg/kg)にわたる 9 人の患者から評価した。

*最後の測定時点での倍率変化を計算した。α-Gal A活性は、3時間の反応時間を使用して測定され、nmol/hr/mLで表された。ERTを受けている対象では、これはERトラフでサンプル採取した。正常範囲及び平均は、健康な男性個人に基づいて決定した。

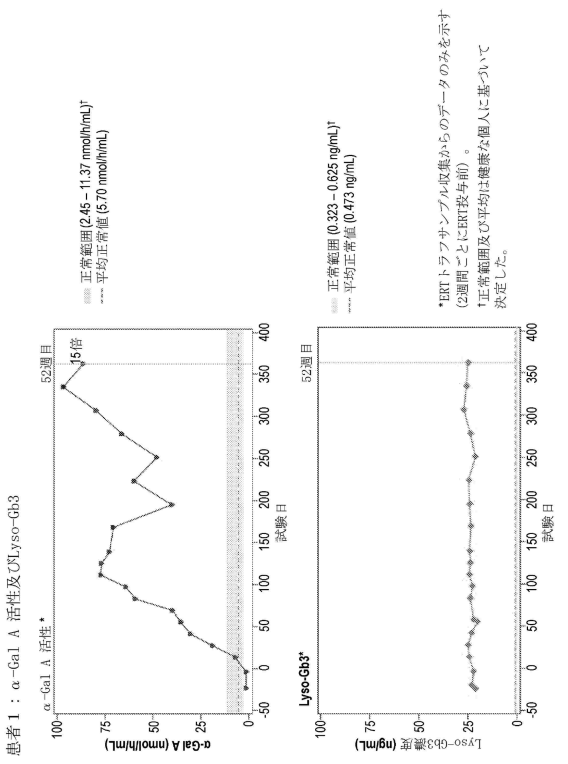
【図６Ａ】



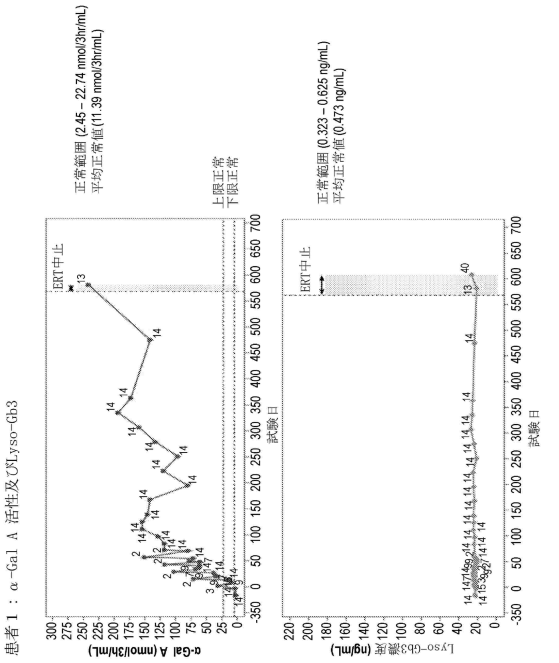
*全ての対象のERTトラフ収集にプライントしたデータのみを示す（2週間ごとにERT後に収集）。α-Gal A 活性のデータは標準化された転換率を使用して計算した。

†正常値は男性正常値範囲に基づいて計算した。

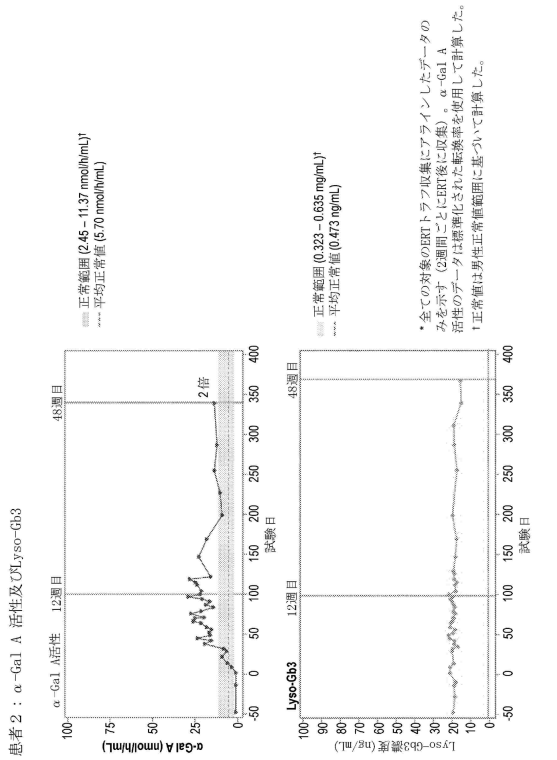
【図６Ｂ】



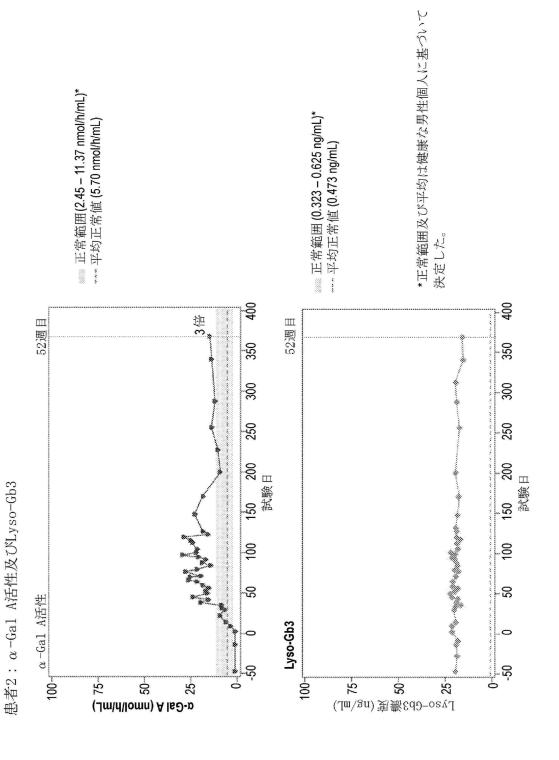
【図６Ｃ】



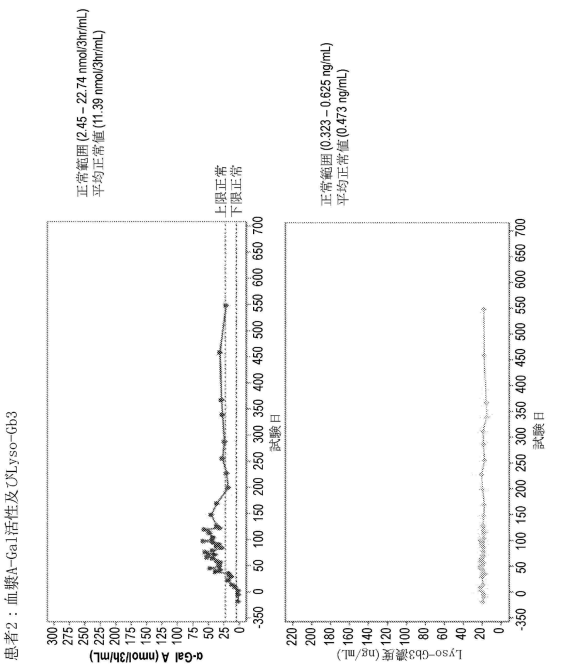
【図６Ｄ】



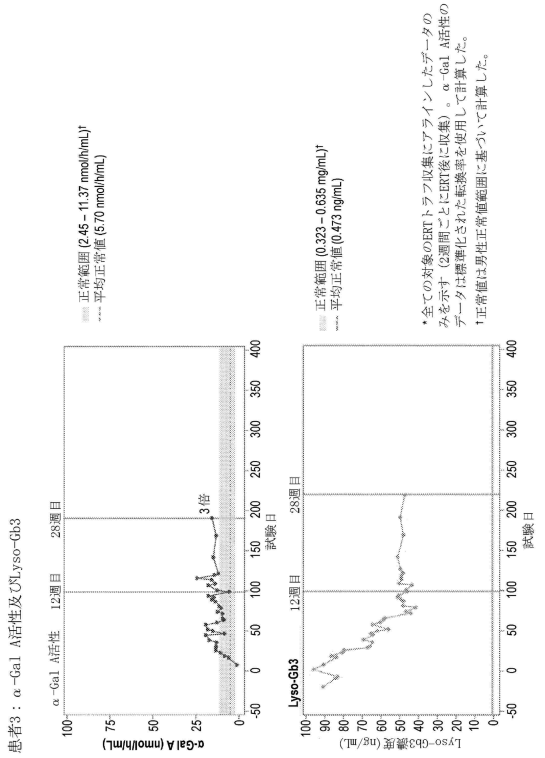
【図６Ｅ】



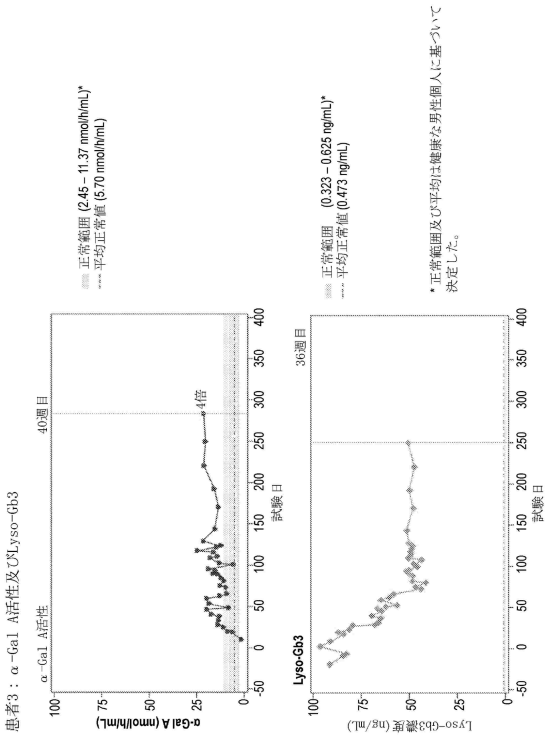
【図６Ｆ】



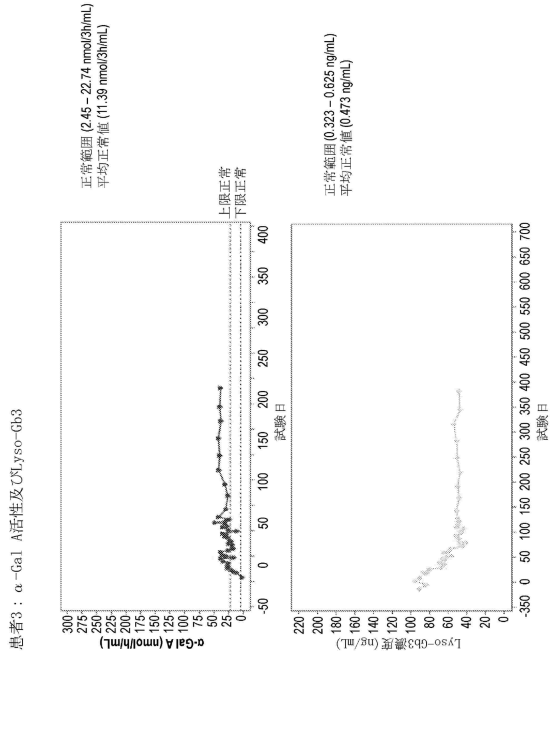
【図６Ｇ】



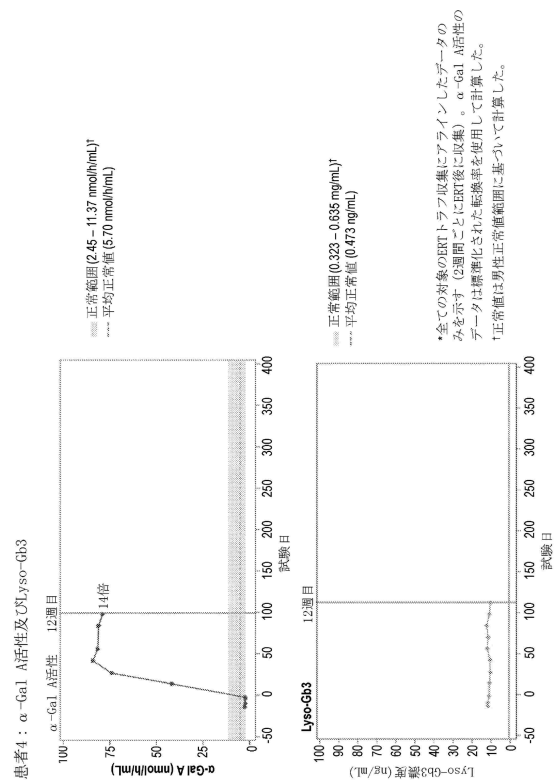
【図６Ｈ】



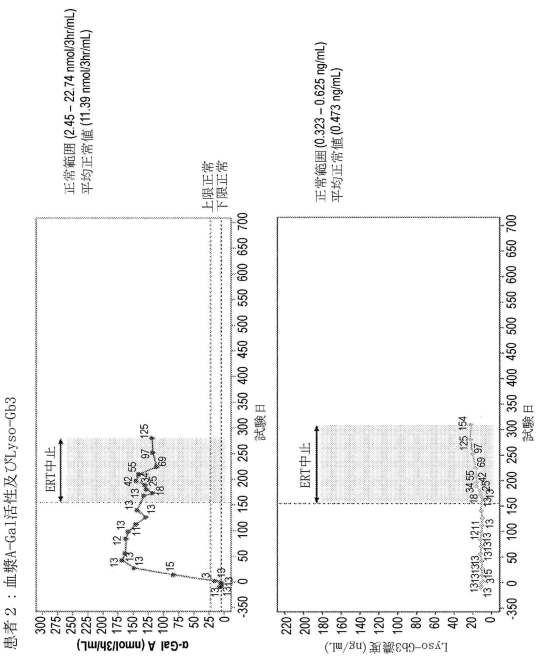
【図６Ｉ】



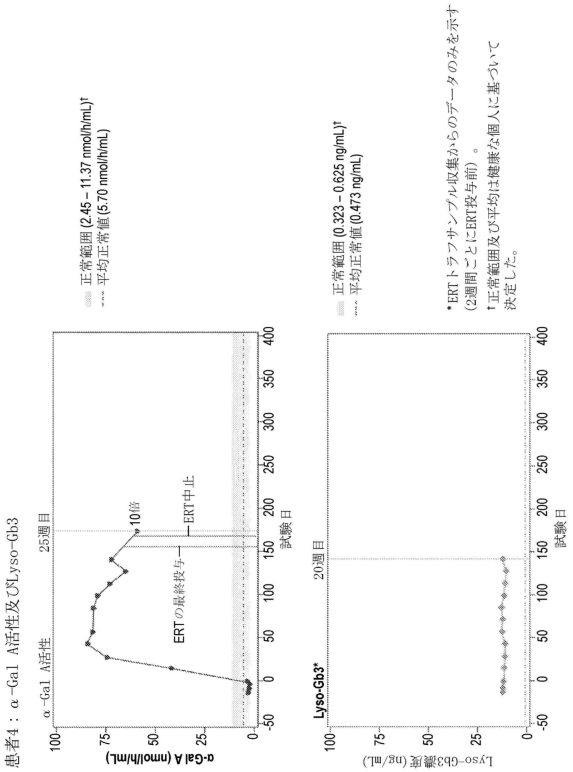
【図６Ｊ】



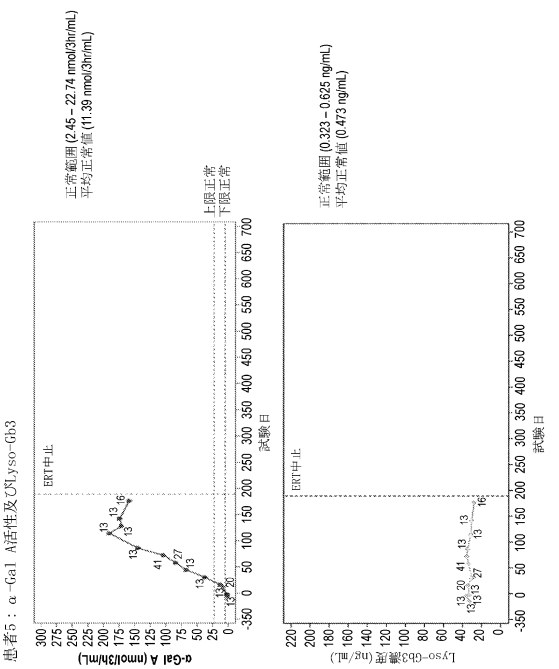
【図６Ｋ】



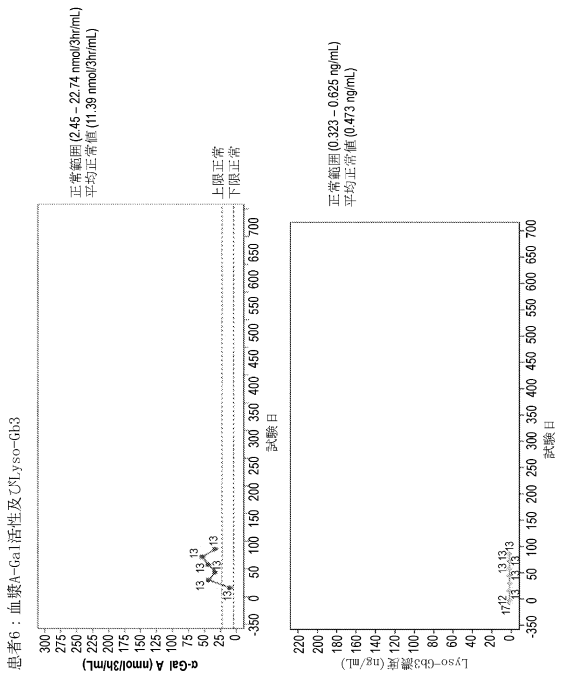
【図６Ｌ】



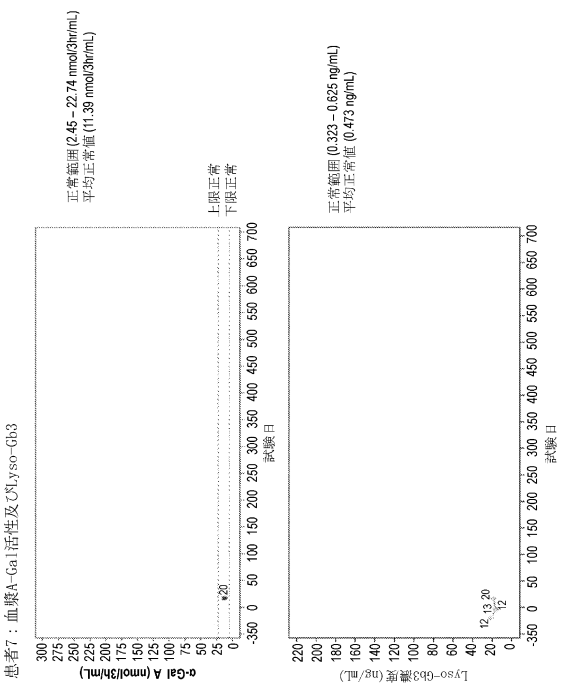
【図６Ｍ】



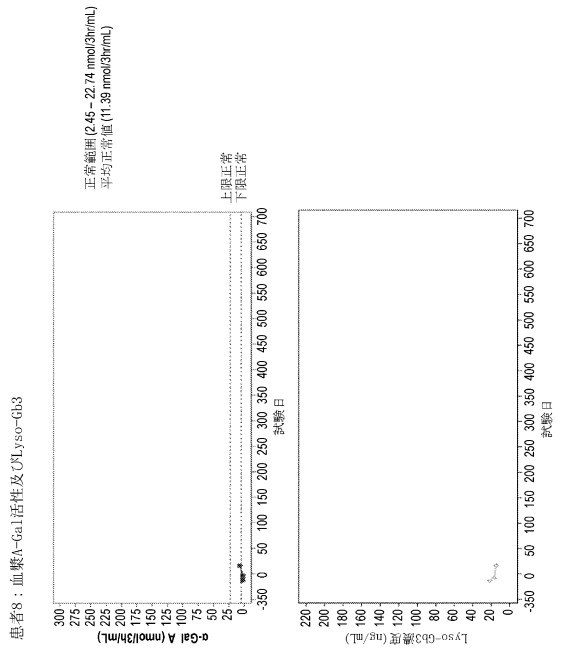
【図６Ｎ】



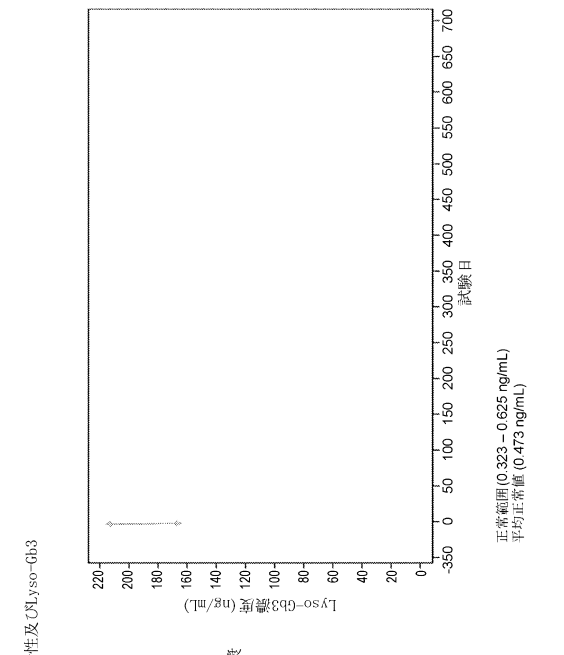
【図６Ｏ】



【図６Ｐ】



【図６Ｑ】



【配列表】
20245420230000001.xml

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/79249

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC - INV. C12N 15/86, A61K 38/47, A61K 48/00 (2023.01)
ADD. A61P 3/00 (2023.01)
CPC - INV. C12N 15/86, C12Y 302/01022, C12N 2830/008, C12N 2830/42, C12N 2750/14143
ADD. A61K 48/005, A61P 3/00
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2020/0239911 A1 (SANGAMO THERAPEUTICS, INC.) 30 July 2020 (30.07.2020) para [0010], [0024], [0032], [0057], [0216], sheet 1 fig 1A,B, claims 11 and 22, SEQ ID NO: 9	1-7, 10, 11
X,P	WO 2022/155685 A1 (SPARK THERAPEUTICS, INC.) 21 July 2022 (21.07.2022) para [0050], [0052], [0408], Table 2.	1, 3, 5

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
12 January 2023	FEB 16 2023
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Kari Rodriquez Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/79249

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. ☒ forming part of the international application as fi led.

   b. ☐ furnished subsequent to the international fi ling date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),

      ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/79249

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 8, 9, 12-82
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (July 2022)

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
A61P 9/04 (2006.01)		A61P	9/04	
A61P 13/12 (2006.01)		A61P	13/12	
A61P 9/10 (2006.01)		A61P	9/10	
A61K 38/17 (2006.01)		A61K	38/17	
A61K 38/47 (2006.01)		A61K	38/47	
A61P 35/00 (2006.01)		A61P	35/00	
A61K 9/08 (2006.01)		A61K	9/08	
A61K 47/02 (2006.01)		A61K	47/02	
A61K 47/26 (2006.01)		A61K	47/26	
A61K 47/10 (2017.01)		A61K	47/10	
A61K 31/573 (2006.01)		A61K	31/573	
A61P 27/16 (2006.01)		A61P	27/16	
A61K 48/00 (2006.01)		A61K	48/00	
A61K 9/127 (2006.01)		A61K	9/127	
A61K 9/12 (2006.01)		A61K	9/12	
A61K 31/445 (2006.01)		A61K	31/445	
A61K 31/439 (2006.01)		A61K	31/439	
A61K 31/517 (2006.01)		A61K	31/517	
C12N 15/864 (2006.01)		C12N	15/864	100Z
C12N 15/12 (2006.01)		C12N	15/12	
C12N 15/56 (2006.01)		C12N	15/56	
G01N 33/53 (2006.01)		G01N	33/53	D
G01N 33/543 (2006.01)		G01N	33/543	545A

,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

（特許庁注：以下のものは登録商標）

１．ＴＷＥＥＮ

弁理士　高橋 香元

(72)発明者　パッサラクア，クリストバル
アメリカ合衆国，カリフォルニア州 ９４８０４，リッチモンド，スイート エー１００，５０１ カナル ブールバード，サンガモ セラピューティクス，インコーポレイテッド内

(72)発明者　ヒューストン，マーシャル
アメリカ合衆国，カリフォルニア州 ９４８０４，リッチモンド，スイート エー１００，５０１ カナル ブールバード，サンガモ セラピューティクス，インコーポレイテッド内

(72)発明者　スベルビエール，ベルナード
アメリカ合衆国，カリフォルニア州 ９４８０４，リッチモンド，スイート エー１００，５０１ カナル ブールバード，サンガモ セラピューティクス，インコーポレイテッド内

Ｆターム（参考）　4C076 AA12 AA19 BB13 CC10 CC11 CC21 CC27 DD23 DD26Z DD67 EE23 EE49
4C084 AA02 AA13 DC22 MA17 MA65 MA66 NA14 ZA08 ZA33 ZA34 ZA36 ZA81 ZA89 ZB26 ZC21
4C086 AA01 AA02 BC21 BC46 CB09 DA10 MA03 MA05 MA17 MA65 MA66 NA14 ZA08 ZA33 ZA34 ZA36 ZA81 ZA89 ZB26 ZC21
4C087 AA01 AA02 BC83 MA17 MA55 MA65 MA66 NA14 ZA08 ZA33

Fターム（参考） 3 ZA34 ZA36 ZA81 ZA89 ZB26 ZC21