



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0129058  
(43) 공개일자 2019년11월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 38/46 (2006.01) A61P 19/08 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
A61K 38/465 (2013.01)  
A61P 19/08 (2018.01)  
(21) 출원번호 10-2019-7028427  
(22) 출원일자(국제) 2018년03월29일  
심사청구일자 없음  
(85) 번역문제출일자 2019년09월27일  
(86) 국제출원번호 PCT/US2018/025206  
(87) 국제공개번호 WO 2018/183720  
국제공개일자 2018년10월04일  
(30) 우선권주장  
62/480,213 2017년03월31일 미국(US)  
(뒷면에 계속)

(71) 출원인  
알렉시온 파마슈티칼스, 인코포레이티드  
미국 코네티컷 06510 뉴 하벤 컬리지 스트리트 100  
(72) 발명자  
모즐리, 스콧, 에드워드  
미국 02476 매사추세츠주 알링턴 실비아 스트리트 113  
덴커, 앤드류, 이.  
미국 06510 코네티컷주 뉴헤이븐 칼리지 스트리트 100  
판, 웨이-지안  
미국 06510 코네티컷주 뉴헤이븐 칼리지 스트리트 100  
(74) 대리인  
양영준, 김영

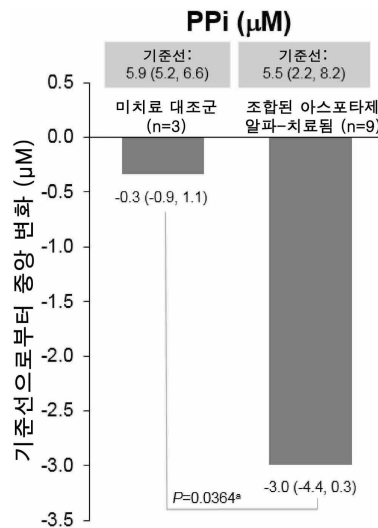
전체 청구항 수 : 총 90 항

(54) 발명의 명칭 성인 및 청소년에서 저포스파타제증 (HPP)을 치료하는 방법

(57) 요약

본 개시내용은 다음과 같은 방법을 특징으로 한다: 하기를 나타내는 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 HPP가 있는 청소년)에서 저포스파타제증 (HPP)을 치료하는 방법으로, 줄어든 파이로포스페이트 (PPi) 또는 피리독살 5' -포스페이트 (PLP) 농도로, 예를 들어, 혈장 샘플에서의 농도, 신체적 손상, 또는 줄어든 걷기 능력으로 상기 환자에게 가용성 알칼리성 포스파타제 (sALP)를 투여함에 의해 나타난다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류  
*C12Y 301/03001* (2013.01)

(30) 우선권주장  
62/502,255 2017년05월05일 미국(US)  
62/643,953 2018년03월16일 미국(US)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

성인 HPP의 적어도 하나의 증상을 갖는 것을 특징으로 하는 약 18세 이상 연령의 미접촉, 소아-개시 HPP 환자에서 저포스파타제증 (HPP)을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 하기 단계의 치료 레지멘으로 환자에게 가용성 알칼리성 포스파타제 (sALP)를 투여하는 것을 포함하는, 방법: 적어도 2주의 치료 기간 동안 약 1 mg/kg/주 내지 약 9 mg/kg/주, 바람직하게는 6 mg/kg/주의 sALP를 제공하는, 단계, 상기 sALP는 서열번호:1의 아미노산 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 여기서 sALP의 투여는 하기 중 하나 이상을 초래하는, 단계:

(i) 미치료된 약 18세 이상 연령의 소아-개시 HPP 대상체로부터의 혈장 샘플에서 PPi 농도에 비하여 적어도 약 1  $\mu$ M의 환자로부터의 혈장 샘플에서 무기 파이로포스페이트 (PPi) 농도의 통계적으로 상당한 감소;

(ii) 하기로부터의 혈장 샘플에서 PLP 농도에 비하여 적어도 약 100 ng/ml의 환자로부터의 혈장 샘플에서 피리독살 5'-포스페이트 (PLP) 농도의 통계적으로 상당한 감소: 미치료된 약 18세 이상 연령의 소아-개시 HPP 대상체; 및

(iii) 다음 환자의 6분 내 걷기 거리에 비하여, 6분 걷기 테스트 (6MWT)에 의해 평가될 때, 투여 없는 환자의 걷기 거리에서 적어도 50미터의 통계적으로 유의미한 증가.

#### 청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 치료 기간은 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주인, 방법.

#### 청구항 3

청구항 1 또는 2에 있어서, 환자로부터의 혈장 샘플에서 PPi 농도에서의 감소, 환자로부터의 혈장 샘플에서 PLP 농도에서의 감소, 및/또는 환자의 걷기 거리는 증가 후 치료 기간 동안 지속되는, 방법.

#### 청구항 4

청구항 1 내지 3 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 적어도 약 2  $\mu$ M의 PPi 혈장 농도에서의 감소를 갖는, 방법.

#### 청구항 5

청구항 1 내지 4 중 어느 한 항에 있어서, sALP의 투여 이전에, 상기 환자는 혈장 PPi 농도 약 6  $\mu$ M를 갖는, 방법.

#### 청구항 6

청구항 1 내지 5 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 sALP의 투여 후 약 2  $\mu$ M 내지 약 5  $\mu$ M의 혈장 PPi 농도를 갖는, 방법.

#### 청구항 7

청구항 1 내지 6 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PLP 농도에서의 감소는 적어도 약 200 ng/ml인, 방법.

#### 청구항 8

청구항 1 내지 7 중 어느 한 항에 있어서, sALP의 투여 이전에, 상기 환자는 혈장 PLP 농도를 최대 1300 ng/ml로 갖는, 방법.

**청구항 9**

청구항 1 내지 8 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 sALP의 투여 후 약 2 ng/ml 내지 약 150 ng/ml의 혈장 PLP 농도를 갖는, 방법.

**청구항 10**

청구항 1 내지 9 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1년의 치료 기간 동안 sALP의 투여는 6분 내 걷기 거리에서 적어도 100미터 또는 그 초과를 증가를 초래하는, 방법.

**청구항 11**

청구항 1 내지 10 중 어느 한 항에 있어서, sALP의 투여 이전에, 상기 환자는 6분 내에 약 350 미터 이하 걷기 거리를 갖는 것을 특징으로 하는, 방법.

**청구항 12**

청구항 1 내지 11 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 sALP의 투여 후 약 420미터 또는 그 초과를 6분 내 걷기 거리를 나타내는, 방법.

**청구항 13**

청구항 1 내지 12 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 sALP의 투여 후 보조 이동 장치에 대한 감소된 의존을 나타내는, 방법.

**청구항 14**

청구항 13에 있어서, 상기 보조 이동 장치는 보행기, 휠체어, 부목, 목발, 및 보조기구에 의한 기능회복으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 장치인, 방법.

**청구항 15**

청구항 1 내지 14 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 sALP의 투여 후 골절의 줄어드는 발병률을 경험하는, 방법.

**청구항 16**

약 13세 이상 연령의 환자에서 저포스파타제증 (HPP)을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 적어도 2주의 치료 기간 동안 약 1 mg/kg/주 내지 약 9 mg/kg/주, 바람직하게는 6 mg/kg/주의 sALP를 제공하는 치료 레지멘으로 환자에게 가용성 알칼리성 포스파타제 (sALP)를 투여하는 단계를 포함하고, 상기 sALP는 다음의 아미노산 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고: 서열번호:1, 그리고 sALP의 투여는 하기 중 하나 이상을 초래하는, 방법:

- (i) sALP의 투여 없는 환자의 % 예상된 HHD 점수에 비하여 약 5% 또는 그 초과를 환자의 백분율 (%) 예상된 휴대용 동적측정 (HHD) 점수에서의 변화;
- (ii) sALP의 투여 없는 환자의 LEFS 점수에 비하여 약 3 또는 그 초과를 환자의 하지 기능적 척도 (LEFS) 점수에서의 변화; 및
- (iii) sALP의 투여 없는 환자의 BPI-SF 점수에 비하여 약 -2 또는 그 초과를 환자의 간결한 통증 목록-단형 (BPI-SF) 점수에서의 변화.

**청구항 17**

약 13세 이상 연령의 환자에서 저포스파타제증 (HPP)을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 적어도 2주의 치료 기간 동안 약 1 mg/kg/주 내지 약 9 mg/kg/주, 바람직하게는 6 mg/kg/주의 sALP를 제공하는 치료 레지멘으로 환자에게 가용성 알칼리성 포스파타제 (sALP)를 투여하는 단계를 포함하고, 상기 sALP는 서열번호: 1의 아미노산 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 sALP의 투여는 하기 중 하나 이상을 초래하는, 방법:

- (i) 하기의 투여 없는 환자로부터의 혈장 샘플에서 PPi 농도에 비하여 약 25% 또는 그 초과환자로부터의 혈장 샘플에서 PPi 농도에서의 감소: sALP;
- (ii) 하기의 투여 없는 환자로부터의 혈장 샘플에서 PLP 농도에 비하여 약 50% 또는 그 초과환자로부터의 혈장 샘플에서 PLP 농도에서의 감소: sALP; 및
- (iii) 다음 환자의 6MWT 값에 비하여 환자의 예상된 6MWT 값의 약 80% 또는 약 80% 초과환자의 6MWT 값에서의 증가: sALP의 투여 없는 환자.

**청구항 18**

청구항 1 내지 17 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sALP는 일당, 주당, 또는 개월당 1회 이상 투여되는, 방법.

**청구항 19**

청구항 18에 있어서, 상기 sALP는 매주 2회, 매주 3회, 매주 4회, 매주 5회, 매주 6회, 또는 매주 7회 투여되는, 방법.

**청구항 20**

청구항 1 내지 19 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sALP는 매주 2일, 매주 3일, 매주 4일, 매주 5일, 매주 6일, 또는 매주 7일로 다중 용량으로 투여되는, 방법.

**청구항 21**

청구항 1 내지 20 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sALP는 약 2.1 mg/kg/주 내지 약 3.5 mg/kg/주의 초기 투약량으로 투여되고 후속으로 약 6 mg/kg/주의 투약량으로 증가되는, 방법.

**청구항 22**

청구항 21에 있어서, 약 0.3 mg/kg/1일 내지 약 0.5 mg/kg/1일의 sALP의 초기 투약량으로 상기 sALP가 투여되는, 방법.

**청구항 23**

청구항 21 또는 22에 있어서, 상기 초기 투약량은 다음의 치료 기간 후 증가되는, 방법: 적어도 6개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 또는 적어도 4년 또는 더 긴 기간.

**청구항 24**

청구항 1 내지 23 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sALP는 약 1.3 mg/kg/주, 약 2.7 mg/kg/주, 또는 약 6 mg/kg/주의 투약량으로 투여되는, 방법.

**청구항 25**

청구항 1 내지 24 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sALP는 약 2 mg/kg 매주 3회, 약 3 mg/kg 매주 2회, 약 3 mg/kg 매주 3회, 또는 약 1 mg/kg 매주 6회의 투약량으로 투여되는, 방법.

**청구항 26**

청구항 25에 있어서, 상기 sALP는 매일 1회 연속적으로 또는 격일로 투여되는, 방법.

**청구항 27**

청구항 1 내지 26 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sALP는 서열번호:1의 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

**청구항 28**

청구항 27에 있어서, 상기 sALP는 서열번호:1의 아미노산 서열로 구성되는, 방법.

**청구항 29**

청구항 1 내지 28 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sALP는 성인 HPP의 적어도 하나의 증상을 치료하기 위해 치료적으로 효과적인 양으로 투여되는, 방법.

**청구항 30**

청구항 29에 있어서, 상기 성인 HPP의 적어도 하나의 증상은 하기 중 하나 이상을 포함하는, 방법: 포스포에탄올아민 (PEA)의 상승된 혈액 및/또는 소변 수준, 아무기화, 과칼슘뇨증, 골격 기형, 어기적어기적 보행, 뼈 통증, 골절, 칼슘 파이로포스페이트 이수화물 결정 침착, 관절염, 파이로포스페이트 관절병증, 연골석회화증, 석회성 관절주위염, 및 가성골절.

**청구항 31**

청구항 1 내지 30 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 sALP의 투여 후 이소성 석회화를 나타내지 않는, 방법.

**청구항 32**

청구항 31에 있어서, 상기 환자는 sALP의 투여 후 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년 또는 더 긴 기간 동안 이소성 석회화를 나타내지 않는, 방법.

**청구항 33**

청구항 1 내지 32 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 sALP의 투여에 대해 내성을 나타내는, 방법.

**청구항 34**

청구항 33에 있어서, 상기 내성은 주사 부위 홍반, 헤모글로빈의 감소, 열증, 폐렴, 상부 기도 감염, 중이염, 구토, 변비, 설사, 치아 손실, 비인두염, 발진, 치과 이송, 및 자극감수성으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 유해 사례의 결여 또는 줄어든 발병률을 포함하는, 방법.

**청구항 35**

청구항 1 내지 34 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sALP는 적어도 하나의 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제, 또는 부형제를 포함하는 조성물로 투여되는, 방법.

**청구항 36**

청구항 35에 있어서, 상기 적어도 하나의 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제, 또는 부형제는 염수인, 방법.

**청구항 37**

청구항 35에 있어서, 상기 적어도 하나의 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제, 또는 부형제는 염화나트륨 및 인산나트륨을 포함하는, 방법.

**청구항 38**

청구항 37에 있어서, 상기 적어도 하나의 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제, 또는 부형제는 약 150 mM 염화나트륨 및 약 25 mM 인산나트륨을 포함하는, 방법.

**청구항 39**

청구항 35 내지 38 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 피하로, 근육내로, 정맥내로, 경구로, 비강으로, 설하로, 척추강내로, 또는 진피내로 투여되는, 방법.

**청구항 40**

청구항 39에 있어서, 상기 조성물은 피하로 투여되는, 방법.

**청구항 41**

청구항 1 내지 40 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sALP는 PEA, PPi, 및 PLP에 대해 생리적으로 활성인, 방법.

**청구항 42**

청구항 1 내지 41 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sALP는 뼈에서 골격 무기화를 개선하는데 촉매적으로 능숙한, 방법.

**청구항 43**

청구항 1 내지 42 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sALP는 알칼리성 포스파타제의 가용성 세포의 도메인인, 방법.

**청구항 44**

청구항 1 내지 43 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 인간인, 방법.

**청구항 45**

성인 HPP의 적어도 하나의 증상을 갖는 것을 특징으로 하는 약 18세 이상 연령의 미접촉, 소아-개시 HPP 환자에서 저포스파타제증 (HPP)을 치료하기 위해 서열번호:1의 아미노산 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 가용성 알칼리성 포스파타제 (sALP)로서, 상기 sALP는 적어도 2주의 치료 기간 동안 약 1 mg/kg/주 내지 약 9 mg/kg/주, 구체적으로 6 mg/kg/주의 sALP를 제공하는 치료 레지멘으로 투여를 위해 제형화되고, sALP의 투여는 환자가 하기 중 하나 이상을 초래하도록 하는 것을 특징으로 하는, sALP: (i) 미치료된 약 18세 이상 연령의 소아-개시 HPP 대상체로부터의 혈장 샘플에서 PPi 농도에 비하여 적어도 약 1 μM의 환자로부터의 혈장 샘플에서 무기 파이로포스페이트 (PPi) 농도의 통계적으로 상당한 감소;

(ii) 하기로부터의 혈장 샘플에서 PLP 농도에 비하여 적어도 약 100 ng/ml의 환자로부터의 혈장 샘플에서 피리독살 5'-포스페이트 (PLP) 농도의 통계적으로 상당한 감소: 미치료된 약 18세 이상 연령의 소아-개시 HPP 대상체; 및

(iii) 투여 없는 환자의 6분 내 걷기 거리에 비하여, 6분 걷기 테스트 (6MWT)에 의해 평가될 때, 환자의 걷기 거리에서 적어도 50미터의 통계적으로 유의미한 증가.

**청구항 46**

청구항 45에 있어서, 상기 치료 기간은 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주인, sALP.

**청구항 47**

청구항 45 또는 46에 있어서, 환자로부터의 혈장 샘플에서 PPi 농도에서의 감소, 환자로부터의 혈장 샘플에서 PLP 농도에서의 감소, 및/또는 환자의 걷기 거리는 증가 후 치료 기간 동안 지속되는, sALP.

**청구항 48**

청구항 45 내지 47 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 약 2 μM의 PPi 혈장 농도에서의 감소를 상기 환자가 가지는 것을 특징으로 하는, sALP.

**청구항 49**

청구항 45 내지 48 중 어느 한 항에 있어서, sALP의 투여 이전, 환자는 혈장 PPi 농도로 약 6 μM를 갖는 것을 특징으로 하는, sALP.

**청구항 50**

청구항 45 내지 49 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 sALP의 투여 후 약 2 μM 내지 약 5 μM의 혈장 PPi 농도를 갖는 것을 특징으로 하는, sALP.

**청구항 51**

청구항 45 내지 50 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PLP 농도에서의 감소는 적어도 약 200 ng/ml인 것을 특징으로

하는, sALP.

**청구항 52**

청구항 45 내지 51 중 어느 한 항에 있어서, sALP의 투여 이전, 상기 환자는 혈장 PLP 농도를 최대 1300 ng/ml로 갖는 것을 특징으로 하는, sALP.

**청구항 53**

청구항 45 내지 52 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 sALP의 투여 후 약 2 ng/ml 내지 약 150 ng/ml의 혈장 PLP 농도를 갖는 것을 특징으로 하는, sALP.

**청구항 54**

청구항 45 내지 53 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 걷기 거리로 6분 내에 약350 미터 이하인 것을 특징으로 하는, sALP.

**청구항 55**

청구항 45 내지 54 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1년의 치료 기간 동안 sALP의 투여는 적어도 100미터 또는 그 초과 6분 내 걷기 거리에서의 증가를 초래하는, sALP.

**청구항 56**

청구항 45 내지 55 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 sALP의 투여 후 약 420미터 또는 그 초과 6분 내 걷기 거리를 나타내는, sALP.

**청구항 57**

청구항 45 내지 56 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 sALP의 투여 후 보조 이동 장치에 대한 감소된 의존을 나타내는, sALP.

**청구항 58**

청구항 57에 있어서, 상기 보조 이동 장치는 보행기, 휠체어, 부목, 목발, 및 보조기구에 의한 기능회복으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 장치인, sALP.

**청구항 59**

청구항 45 내지 58 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 sALP의 투여 후 골절의 줄어든 발병률을 경험하는, sALP.

**청구항 60**

청구항 45 내지 59 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sALP는 일당, 주당, 또는 개월당 1회 이상 투여를 위해 제형화된, sALP.

**청구항 61**

청구항 60에 있어서, 상기 sALP는 매주 2회, 매주 3회, 매주 4회, 매주 5회, 매주 6회, 또는 매주 7회 투여를 위해 제형화된, sALP.

**청구항 62**

청구항 45 내지 61 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sALP는 매주 2일, 매주 3일, 매주 4일, 매주 5일, 매주 6일, 또는 매주 7일로 다중 용량 투여를 위해 제형화된, sALP.

**청구항 63**

청구항 45 내지 62 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sALP는 약 2.1 mg/kg/주 내지 약 3.5 mg/kg/주의 초기 투약량으로 투여를 위해 제형화되고, 후속으로 약 6 mg/kg/주의 투약량으로 증가되는, sALP.

**청구항 64**

청구항 63에 있어서, 상기 sALP는, 약 0.3 mg/kg/1일 내지 약 0.5 mg/kg/1일의 초기 투약량으로 투여를 위해 제형되는, sALP.

**청구항 65**

청구항 63 또는 64에 있어서, 치료 레지멘의 초기 투약량은 적어도 6개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 또는 적어도 4년 또는 더 긴 기간의 치료 기간 후 증가되는 것을 특징으로 하는, sALP.

**청구항 66**

청구항 45 내지 65 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sALP는 약 1.3 mg/kg/주, 약 2.7 mg/kg/주, 또는 약 6 mg/kg/주의 투약량으로 투여를 위해 제형화되는, sALP.

**청구항 67**

청구항 45 내지 66 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sALP는 약 2 mg/kg 매주 3회, 약 3 mg/kg 매주 2회, 약 3 mg/kg 매주 3회, 또는 약 1 mg/kg 매주 6회의 투약량으로 투여를 위해 제형화되는, sALP.

**청구항 68**

청구항 67에 있어서, 상기 sALP는 매일 1회 연속적 또는 격일 투여를 위해 제형화되는, sALP.

**청구항 69**

청구항 45 내지 68 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sALP는 서열번호:1의 아미노산 서열을 포함하는, sALP.

**청구항 70**

청구항 69에 있어서, 상기 sALP는 서열번호:1의 아미노산 서열로 구성되는, sALP.

**청구항 71**

청구항 45 내지 70 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sALP는 HPP의 적어도 하나의 증상을 치료하기 위해 치료적으로 효과적인 양으로 투여를 위해 제형화된, sALP.

**청구항 72**

청구항 71에 있어서, 상기 HPP의 적어도 하나의 증상은 포스포에탄올아민 (PEA)의 상승된 혈액 및/또는 소변 수준, 아무기화, 과칼슘뇨증, 골격 기형, 어기적어기적 보행, 뼈 통증, 골절, 칼슘 파이로포스페이트 이수화물 결정 침착, 관절염, 및 파이로포스페이트 관절병증 중 하나 이상을 포함하는, sALP.

**청구항 73**

청구항 45 내지 72 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 sALP의 투여 후 이소성 석회화를 나타내지 않는, sALP.

**청구항 74**

청구항 73에 있어서, 상기 환자는 sALP의 투여 후 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년 또는 더 긴 기간 동안 이소성 석회화를 나타내지 않는, sALP.

**청구항 75**

청구항 45 내지 74 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 sALP의 투여에 대해 내성을 나타내는 sALP.

**청구항 76**

청구항 75에 있어서, 상기 내성은 주사 부위 홍반, 헤모글로빈의 감소, 열증, 폐렴, 상부 기도 감염, 중이염,

구토, 변비, 설사, 치아 손실, 비인두염, 발진, 치과 이송, 및 자극감수성으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 유해 사례의 결여 또는 줄어든 발병률을 포함하는, sALP.

**청구항 77**

청구항 45 내지 76 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sALP는 적어도 하나의 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제, 또는 부형제를 포함하는 조성물로 투여를 위해 제형화된, sALP.

**청구항 78**

청구항 77에 있어서, 상기 적어도 하나의 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제, 또는 부형제는 염수인, sALP.

**청구항 79**

청구항 78에 있어서, 상기 적어도 하나의 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제, 또는 부형제는 염화나트륨 및 인산나트륨을 포함하는, sALP.

**청구항 80**

청구항 79에 있어서, 상기 적어도 하나의 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제, 또는 부형제는 약 150 mM 염화나트륨 및 약 25 mM 인산나트륨을 포함하는, sALP.

**청구항 81**

청구항 45 내지 80 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 피하, 근육내, 정맥내, 경구, 비강, 설하, 척추강내, 또는 진피내 투여를 위해 제형화된, sALP.

**청구항 82**

청구항 81에 있어서, 상기 조성물은 피하 투여를 위해 제형화된, sALP.

**청구항 83**

청구항 45 내지 82 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sALP는 PEA, PPi, 및 PLP에 대해 생리적으로 활성인, sALP.

**청구항 84**

청구항 45 내지 83 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sALP는 뼈에서 골격 무기화를 개선하는데 촉매적으로 능숙한, sALP.

**청구항 85**

청구항 45 내지 84 중 어느 한 항에 있어서, 상기 sALP는 알칼리성 포스파타제의 가용성 세포외 도메인인, sALP.

**청구항 86**

청구항 45 내지 85 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 인간인, sALP.

**청구항 87**

청구항 1 내지 44 중 어느 한 항에 있어서, sALP의 투여는 하기 중 하나 또는 둘 모두를 초래하는, 방법:

- (i) 환자로부터의 혈장 샘플에서 PPi 농도의 기준선으로부터 최소 제곱 평균에서의 통계적으로 유의미한 변화; 또는
- (ii) 환자로부터의 혈장 샘플에서 PLP 농도의 기준선으로부터 최소 제곱 평균에서의 통계적으로 유의미한 변화.

**청구항 88**

청구항 1 내지 44 및 87 중 어느 한 항에 있어서, sALP의 투여는  $AUC_{last}$ 가 약 2,000 U X일/L 내지 약 7,000 U X일/L를 초래하고, 상기  $AUC_{last}$ 는 제로 시간으로부터 투약 간격에서 최종 관측된 농도의 시간까지의 농도-시간

곡선 하 면적에 상당한, 방법.

**청구항 89**

청구항 1 내지 44, 87, 및 88 중 어느 한 항에 있어서, sALP의 투여는 AUC<sub>inf</sub>가 약 4,000 U X일/L 내지 약 10,000 U X일/L를 초과하고, 상기 AUC<sub>inf</sub>는 제로 시간으로부터 무한대까지의 농도-시간 곡선 하 면적에 상당한, 방법.

**청구항 90**

청구항 1 내지 44 및 87 내지 89 중 어느 한 항에 있어서, sALP의 투여는 약 3일 내지 약 8일의 t<sub>1/2</sub>을 초과하는, 방법.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 개시내용은 저포스파타제증 (HPP)을 치료하는 방법을 특징으로 한다.

**배경 기술**

[0002] 저포스파타제증 (HPP)는 질환의 가장 중증 형태에 대해 100,000명 탄생당 1명의 발병률을 갖는 희귀한 유전 골격 질환이다. 본 장에는 조직-비특이적 알칼리성 포스파타제 (TNALP)에 대해 코딩하는 유전자에서의 기능상실 돌연변이로부터 유래한다. HPP는 구루병에서부터 자궁에서 뼈 무기화의 거의 완전한 부재에 이르는 현저한 범위의 증상 및 중증도를 나타낸다.

[0003] HPP의 제시는 환자들 중에서 다양하고, 환자 연령 사이에서 다양하다. HPP가 있는 대부분의 환자는 골격 변화, 단간, 만성 통증, 동통성 하지, 보행 장애, 및 미성숙한, 외상성 치아 손실을 나타낸다. 예를 들어, HPP가 있는 성인의 공통적인 증상은 하기를 포함할 수 있다: 골연화증, 저조하게 무기화된 골, 무기 파이로포스페이트 (PPi), 피리독살 5' -포스페이트 (PLP), 또는 포스포에탄올아민 (PEA)의 상승된 혈액 및/또는 소변 수준, 아무기화, 과칼슘뇨증, 단간, 골격 기형, 어기적어기적 보행, 뼈 통증, 골절, 칼슘 파이로포스페이트 이수화물 결정 침착, 관절염, 및 파이로포스페이트 관절병증. 공통적인 HPP가 있는 청소년의 증상은 하기를 포함한다: PPi, PEA, 또는 PLP의 상승된 혈액 또는 소변 수준, 골연화증, 골격 기형, 긴장저하, 근육 약화, 류마티스성 합병증, 관절염, 가성통풍, 어기적어기적 보행, 보행의 어려움, 뼈 통증, 통증, 치아의 미성숙한 손실, 아무기화, 폐형성 저하증, 호흡 결핍, 발작, 과칼슘뇨증, 단간, 및 성장 지연.

[0004] HPP와 연관된 신체적 손상에 기인하여, HPP로 시달리는 성인 환자는 종종 건강한 대상체에 비하여 줄어든 걷기 능력을 나타낸다 (Weinstein RS, Whyte MP, *Arch Intern Med.* 1981; 141(6): 727-731). 성인 HPP 환자는 하기로부터 고통을 받을 수 있다: 칼슘 파이로포스페이트 침착 질환 (CPPD), 가성통풍, 연골석회화증, 석회성 관절 주위염, 척추 분쇄 골절, 전자하 골절, 중족골 골절, 및/또는 가성골절 (Coe JD, 등, *J Bone Joint Surg Am.* 1986; 68(7): 981-990; Sutton, RAL, 등, *J Bone Miner Res.* 2012; 27(5): 987-994). 다른 증상, 예컨대 구루병, 구루병 늑골, 중증 아무기화, 발육 부진, 지연된 운동 발전, 부적절한 체중 증가, 폐형성 저하증, 호흡 결핍, 호흡 부진, 두개유합증 (두개유합증의 합병증을 포함함), 및 발작은 HPP가 있는 성인에서가 아닌, HPP가 있는 유아 또는 영아에서 일어난다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0005] 현저히, HPP의 치료의 효능 및 안전성, 특히 연장된 기간 동안 치료를 하는 HPP의 성인 및 청소년 형태와 연관된 특정한 생리적 및 신체적 손상과 줄어든 걷기 능력은 알려지지 않았다. 따라서, 연장된 기간 동안 성인 및 청소년 환자에서 HPP를 치료하고 모니터링하기 위해 사용될 수 있고 따라서 이들 환자가 줄어든 물리적 및 생리적 손상으로 살 수 있고 적절한 수준의 걷기 능력을 다시 얻을 수 있는 방법에 대한 필요성이 존재한다.

**과제의 해결 수단**

[0006] 다음의 것이 개시된다: (1) 하기를 확인하는 방법; HPP가 있는 성인 (예를 들어, 약 18세 또는 그 이상의 HPP가 있는 성인, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인) 및/또는 HPP가 있는 청소년 (예를 들어, 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)으로 가용성 알칼리성 포스포타제 치료 요법 (sALP; 예를 들어, 서열번호:1), 및 (2) sALP로 이러한 환자의 치료. 본 명세서에서 정의된 바와 같이 성인 HPP의 증상은, 예를 들어, 하기를 포함한다: 포스포에탄올아민 (PEA)의 상승된 혈액 및/또는 소변 수준, 아무기화, 과칼슘뇨증, 골격 기형, 어기적어기적 보행, 뼈 통증, 골절, 칼슘 파이로포스페이트 이수화물 결정 침착, 관절염, 파이로포스페이트 관절병증, 연골석회화증, 석회성 관절주위염, 및 가성골절. 본 명세서에서 정의된 바와 같이 청소년 HPP의 증상은, 예를 들어, PPI, PEA, 또는 PLP의 상승된 혈액 또는 소변 수준, 골연화증, 하나 이상의 골격 기형, 긴장저하, 근육 약화, 류마티스성 합병증, 관절염, 가성통풍, 어기적어기적 보행, 보행의 어려움, 뼈 통증, 통증, 미성숙한 치아의 손실, 아무기화, 폐형성 저하증, 호흡결핍, 발작, 과칼슘뇨증, 단간, 및 성장 지연을 포함한다.

[0007] sALP를 사용한 치료 또는 그의 효능에 대한 필요성을 평가하는데 유용한 예시적인 매트릭스는 하기를 포함한다 (예를 들어, 서열번호:1): (1) 혈장 PPI 및 PLP 농도, (2) 6분 걷기 테스트 (6MWT), (3) 운동 능력의 Bruininks-Oseretsky 테스트 2<sup>nd</sup> 판 (BOT-2), (4) 휴대용 동적측정 (HHD), (5) 하지 기능 척도 (LEFS), 및 (6) 간결한 통증 목록-단형 (BPI-SF). 추가의 시험 및 매트릭스는 Tinetti 성능 배향된 이동도 평가 (POMA; 선택적으로 변형됨) 및 동시-공간적 보행 분석 소프트웨어 및 하드웨어, 예컨대 GAITRITE® (Clinical Image Retrieval System Inc.)를 포함할 수 있다. 본 방법은 추가로 하기와 같은 sALP를 사용한 치료 효능을 평가하기 위해 하나 이상의 기재된 매트릭스 (예를 들어, BOT-2, 6MWT, 혈장 PPI 및 PLP 농도, HHD, LEFS, 또는 BPI-SF)를 단독으로 또는 조합으로의 사용을 포함한다: (예를 들어, 서열번호:1)로 HPP가 있는 환자 에 대한 것으로 여기서 특정 점수 또는 값에 대비한 개선은 sALP가 HPP를 치료하는데 효과적임을 입증한다. 또한, HPP가 있는 환자로부터 샘플 (예를 들어, 혈장 샘플)에서 ALP의 활성 수준은 또한 하기에 대한 sALP의 치료 효능을 평가하기 위해 단독으로 또는 이들 매트릭스 중 하나 또는 각각과 조합으로 사용될 수 있다: (예를 들어, 서열번호:1)로 환자에 대한 효능. 추가로, 본 방법은 하기의 투약량 및/또는 빈도를 변경하는 것을 더 포함한다: sALP (예를 들어, 서열번호:1) 투여로 HPP가 있는 성인 (예를 들어, 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 HPP가 있는 청소년에게 투여하기 위한 sALP의 유효량을 결정하기 위함.

[0008] 제1 양태는 하기를 특징으로 한다: 성인 HPP의 증상이 있는 것을 특징으로 하는 약 18세 이상의 소아-개시 HPP 환자 (예를 들어, 인간)에서 HPP를 치료하는 방법으로, 상기 방법은 하기를 투여하는 것을 포함한다: sALP (예를 들어, 서열번호:1)를 환자에게 치료 레지멘으로 약 1 mg/kg/주 내지 약 9 mg/kg/주, 바람직하게는 6 mg/kg/주의 sALP를 다음의 치료 기간 동안 제공함: 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주). 바람직하게는, 성인 환자는 sALP로의 치료에 관해서 미접촉 (즉, 치료 미접촉)이다. 특히, sALP는 하기를 포함한다: 다음의 아미노산 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열: 서열번호:1 (예를 들어, 아스포타제 알파). 다음 sALP의 투여 (예를 들어, 서열번호:1)는 하기 중 하나 이상을 초래한다: (i) 미치료된 약 18세 이상 연령의 소아-개시 HPP 대상체로부터 혈장 샘플에서 PPI 농도에 대비하여 적어도 약 1 μM의 환자로부터의 혈장 샘플에서 PPI 농도에서의 통계적으로 상당한 감소; (ii) 하기로부터의 혈장 샘플에서 PLP 농도에 대비하여 적어도 약 100 ng/ml의 환자로부터의 혈장 샘플에서 PLP 농도에서의 통계적으로 상당한 감소: 미치료된 약 18세 이상 연령의 소아-개시 HPP 대상체; 및 (iii) 6MWT에 의해 평가될 때, 투여 없는 환자의 6분 내 걷기 거리에 비하여 환자의 걷기 거리에서 적어도 50미터의 통계적으로 유의미한 증가. 추가로, 다음 sALP의 투여 후 샘플 (예를 들어, 혈장 샘플)에서 ALP의 활성에서의 증가가 있을 수 있다 (예를 들어, 서열번호:1).

[0009] 본 방법의 결과로, 다음 환자로부터 혈장 샘플에서 PPI 농도에서의 감소(예를 들어, 미접촉, 약 18세 이상 연령의 소아-개시 HPP 환자), 환자로부터의 혈장 샘플에서 PLP 농도에서의 감소, 및/또는 환자의 걷기 거리에서의 증가는 적어도 2주 치료 기간 동안 지속된다 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주).

[0010] 다음 sALP의 투여에 앞서 (예를 들어, 서열번호:1), 환자 (예를 들어, 미접촉, 약 18세 이상 연령의 소아-개시

HPP 환자는 다음을 갖는 것을 특징으로 할 수 있다: 혈장 PPi 농도 최대 약 6  $\mu\text{M}$  (예를 들어, 약 3.5  $\mu\text{M}$ , 약 4  $\mu\text{M}$ , 약 4.5  $\mu\text{M}$ , 약 5  $\mu\text{M}$ , 또는 약 5.5  $\mu\text{M}$  또는 약 3.5  $\mu\text{M}$  내지 약 6  $\mu\text{M}$ 의 범위 이내의 혈장 PPi 농도), 혈장 PLP 농도 최대 1300 ng/ml (예를 들어, 혈장 PLP 농도 약 200 ng/ml, 300 ng/ml, 400 ng/ml, 500 ng/ml, 600 ng/ml, 700 ng/ml, 800 ng/ml, 900 ng/ml, 1000 ng/ml, 1100 ng/ml, 1200 ng/ml, 또는 1300 ng/ml 또는 다음 범위의 혈장 PLP 농도: 약 200 ng/ml 내지 약 1300 ng/ml), 및/또는 6분 내 약 350미터 이하 걷기 거리 (예를 들어, 6분 내의 약 50미터, 75미터, 100미터, 125미터, 150미터, 175미터, 200미터, 225미터, 250미터, 275미터, 또는 350미터 걷기 거리 또는 약 50미터 내지 약 350미터의 범위 내인 6분 내걷기 거리). 치료 기간 동안 sALP의 투여에 따라, 환자로부터의 혈장 샘플에서 PPi 농도에서의 감소는 하기와 같을 수 있다: 적어도 약 2  $\mu\text{M}$  (예를 들어, 환자는 sALP의 투여 후 약 2  $\mu\text{M}$  내지 약 5  $\mu\text{M}$ 의 범위에서의 혈장 PPi 농도를 나타낸다), 환자로부터의 샘플에서 PLP 농도에서의 감소는 하기와 같을 수 있다: 적어도 약 200 ng/ml (예를 들어, 환자는 sALP의 투여 후 약 2 ng/ml 내지 약 150 ng/ml의 범위에서의 혈장 PLP 농도를 나타낸다), 및/또는 적어도 100미터 또는 그 초과 6분 내 걷기 거리에서의 증가 (예를 들어, 환자는 sALP의 투여 후 약 420미터 또는 그 초과 6분 내 걷기 거리를 나타낸다). 환자는 또한 다음 sALP의 투여 후 보조 이동성 장치 (예를 들어, 보행기, 휠체어, 부목, 목발, 및 보조기구에 의한 기능회복)에 대한 감소된 의존 및/또는 골절 (예를 들어, 척추 분쇄 골절, 전자하 골절, 또는 중족골 골절)에 대한 줄어든 발병률을 나타낼 수 있다 (서열번호:1). 환자는 또한, 예를 들어, 하기에 대해 sALP로 치료로부터 배제될 수 있다 건강한 대상체의 범위 이하의 혈청 칼슘 수준 (예를 들어, 약 8.5 내지 약 10.2 mg/dl), 건강한 대상체의 범위 이하의 혈청 포스페이트 수준 (예를 들어, 약 2.5 내지 약 4.5 mg/dl), 건강한 대상체의 범위 이하의 혈청 비타민 D 수준 (예를 들어, 약 20 ng/ml), 건강한 대상체의 범위 이상의 혈청 크레아티닌 (예를 들어, 약 0.6 mg/dl 내지 1.2 mg/dl), 및/또는 건강한 대상체의 범위 이상의 부갑상선 호르몬 수준 (예를 들어, 약 10 내지 약 65 pg/ml).

[0011]

제2 양태는 하기를 특징으로 한다: 약 13세 이상 연령의 환자 (예를 들어, 인간)에서 HPP를 치료하는 방법, 이것은 하기 단계를 포함한다: 다음 sALP를 다음과 같이 투여하는 단계: (예를 들어, 서열번호:1)를 환자에게 치료 레지멘으로 약 1 mg/kg/주 내지 약 9 mg/kg/주, 바람직하게는 6 mg/kg/주의 sALP를 적어도 2주의 치료 기간 동안 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주) 제공하는 단계. 환자는 sALP로 치료에 관하여 미접촉일 수 있다. 특히, sALP는 다음을 포함한다: 다음의 아미노산 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열: 서열번호:1 (예를 들어, 아스포타제 알파). 다음 sALP의 투여 (예를 들어, 서열번호:1)는 하기 중 하나 이상을 초래한다: (i) sALP로 치료 이전 환자의 % 예상된 HHD 점수에 비하여 약 5% 또는 그 초과 (예를 들어, 약 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 또는 20% 또는 그 초과)의 환자의 백분율 (%) 예상된 HHD 점수에서의 변화; (ii) sALP로 치료 이전 환자의 LEFS 점수에 비하여 약 3 또는 그 초과 (예를 들어, 약 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 또는 그 초과)의 환자의 LEFS 점수에서의 변화; 및 (iii) sALP로 치료 이전 환자의 BPI-SF 점수에 비하여 약 -2 또는 그 초과 (예를 들어, 약 -2, 약 -3, 약 -4, 약 -5, 약 -6, 또는 약 -7 또는 그 초과)의 환자의 BPI-SF 점수에서의 변화.

[0012]

제1 및 제2 양태에서, sALP (예를 들어, 서열번호:1)는 일, 주, 월, 또는 년당 1회 이상 (예를 들어, 매주 2회, 매주 3회, 매주 4회, 매주 5회, 매주 6회, 또는 매주 7회) 투여될 수 있다. 특히, sALP는 매주 2일, 매주 3일, 매주 4일, 매주 5일, 매주 6일, 또는 매주 7일로 다중 용량 투여될 수 있다. 예를 들어, sALP (예를 들어, 서열번호:1)는 약 2.1 mg/kg/주 내지 약 3.5 mg/kg/주의 초기 투약량으로 투여되고 (예를 들어, 초기 투약량 약 0.3 mg/kg/1일 내지 약 0.5 mg/kg/1일의 sALP) 그리고 후속으로 약 6 mg/kg/주 또는 그 초과 (예를 들어, 9 mg/kg/주)의 투약량으로 증가된다. 특히, 초기 투약량은 적어도 6개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 또는 적어도 4년 또는 더 긴 기간 (예를 들어, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 적어도 10년, 또는 10년 초과, 예컨대 환자의 수명 동안)의 치료 기간 후 증가될 수 있다. 나아가, sALP (예를 들어, 서열번호:1)는 약 1.3 mg/kg/주, 약 2.7 mg/kg/주, 또는 약 6 mg/kg/주 또는 그 초과 6개월의 투약량으로 투여될 수 있고 (예를 들어, 약 9 mg/kg/주), 예컨대 sALP는 약 2 mg/kg 매주 3회, 약 3 mg/kg 매주 2회, 약 3 mg/kg 매주 3회, 또는 약 1 mg/kg 매주 6회의 투약량으로 투여된다. 추가로, sALP는 연속적인 일 또는 격일로 일당 1회 투여될 수 있다. 게다가, sALP (예를 들어, 서열번호:1)는 성인 HPP의 적어도 하나의 증상을 치료하기 위해 치료적으로 효과적인 양으로 투여될 수 있다 (예를 들어, 하기 중 하나 이상: 포스포에탄올아민 (PEA)의 상승된 혈액 및/또는 소변 수준, 아무기화, 과칼슘뇨증, 골격 기형, 어기적어기적 보행, 뼈 통증, 골절 (예를 들어, 척추 분쇄 골절, 전자하 골절, 또는 중족골 골절), 칼슘 파이로포스페이트 이수화물 결정 침착, 관절염, 파이로포스

페이트 관절병증, 연골석회화증, 석회성 관절주위염, 및 가성골절).

[0013] 제1 및 제2 양태에서, sALP (예를 들어, 서열번호:1)는 하기를 포함한 조성물에서 투여된다: 적어도 하나의 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제, 또는 부형제, 예컨대 염수 또는 염화나트륨 및 인산나트륨. 예를 들어, 적어도 하나의 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제, 또는 부형제는 150 mM 염화나트륨 및 25 mM 인산나트륨을 포함한다. 나아가, 약제학적 조성물은 피하로, 근육내로, 정맥내로, 경구로, 비강으로, 실하로, 척추강내로, 또는 진피내로 투여될 수 있다. 특히, 약제학적 조성물은 피하로 투여된다.

[0014] 제3 양태는 다음의 아미노산 서열번호에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 서열을 포함하는 sALP를 다음에 사용하는 것을 특징으로 한다: 1 (예를 들어, 아스포타제 알파)로 미접촉, 약 18세 이상 연령의 소아-개시 HPP 환자 (예를 들어, 인간)에서 저포스파타제증 (HPP)을 치료하기 위함. 특히, sALP는 약 1 mg/kg/주 내지 약 9 mg/kg/주, 바람직하게는 6 mg/kg/주의 sALP를 적어도 2주 예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주)의 치료 기간 동안 제공하는 치료 레지멘으로 투여를 위해 제형화된다. sALP (예를 들어, 서열번호:1)는 환자에 대한 sALP의 투여가 하기 중 하나 이상을 초래한다는 점에서 특성규명된다: (i) 약 18세 이상 연령의 미치료된 소아-개시 HPP 대상체로부터의 혈장 샘플에서 PPi 농도에 비교하여 적어도 약 1 μM의 환자로부터의 혈장 샘플에서 PPi 농도의 통계적으로 상당한 감소; (ii) 약 18세 이상 연령의 미치료된 소아-개시 HPP 대상체로부터 혈장 샘플에서 PLP 농도에 비하여 적어도 약 100 ng/ml의 환자로부터의 혈장 샘플에서의 PLP 농도의 통계적으로 상당한 감소; 및 (iii) 6MWT에 의해 평가될 때, 투여 없는 환자의 6분 내 걷기 거리에 비하여 환자의 걷기 거리에서 적어도 50미터의 통계적으로 유의미한 증가.

[0015] 제3 양태에서, sALP는 환자 (예를 들어, 미접촉, 약 18세 이상 연령의 소아-개시 HPP 환자)로부터의 혈장 샘플에서 PPi 농도에서의 감소, the decrease in in the 환자로부터의 혈장 샘플에서 PLP 농도에서의 감소, 및/또는 환자의 걷기 거리에서의 감소가 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주)의 치료 기간 동안 지속된다는 점에서 특성규명될 수 있다.

[0016] 제3양태에서, sALP (예를 들어, 서열번호:1)는 sALP의 투여 이전에, 환자 (예를 들어, 미접촉, 약 18세 이상 연령의 소아-개시 HPP 환자)는 약 6 μM의 혈장 PPi 농도, 최대 1300 ng/ml의 혈장 PLP 농도, 및/또는 약 350 미터 이하의 6분 내 걷기 거리를 나타낸다는 점에서 특성규명될 수 있다. 특히, sALP는 환자로부터의 혈장 샘플에서 PPi 농도에서의 감소가 적어도 약 2 μM이고 (예를 들어, 환자는 sALP의 투여 후 약 2 μM 내지 약 5 μM의 혈장 PPi 농도를 나타냄), 환자로부터의 샘플에서 PLP 농도의 감소가 적어도 약 200 ng/ml이고 (예를 들어, 환자는 sALP의 투여 후 약 2 ng/mL 내지 약 150 ng/ml의 혈장 PLP 농도를 나타냄), 및/또는 적어도 1년의 치료 기간 동안 sALP의 투여는 적어도 100미터 또는 그 초과 6분 내 걷기 거리에서의 증가를 초래한다 (예를 들어, 환자는 sALP의 투여 후 약 420미터 또는 그 초과 6분 내 걷기 거리를 나타냄)는 점에서 특성규명된다. 환자는 또한 하기 현상을 나타낼 수 있다: 보조 이동성 장치 (예를 들어, 보행기, 휠체어, 부목, 목발, 및 보조기구에 의한 기능회복)에 대한 감소된 의존 및/또는 골절의 줄어든 발병률 (예를 들어, 척추 분쇄 골절, 전자하 골절, 또는 중족골 골절) 다음 sALP의 투여 후: (예를 들어, 서열번호:1).

[0017] 제3양태에서, sALP (예를 들어, 서열번호:1)는 일, 주, 월, 또는 년당 1회 이상 투여 (예를 들어, 매주 2회, 매주 3회, 매주 4회, 매주 5회, 매주 6회, 또는 매주 7회)를 위해 제형화될 수 있다. 특히, sALP는 매주 2일, 매주 3일, 매주 4일, 매주 5일, 매주 6일, 또는 매주 7일에 다중 용량으로 투여를 위해 제형화된다. 예를 들어, sALP (예를 들어, 서열번호:1)는 약 2.1 mg/kg/주 내지 약 3.5 mg/kg/주 (예를 들어, sALP의 약 0.3 mg/kg/1일 내지 약 0.5 mg/kg/1일의 초기 투약량)의 초기 투약량으로 투여 제형화되고 후속으로 약 6 mg/kg/주 또는 그 초과 (예를 들어, 9 mg/kg/주) 투약량으로 증가된다. 특히, 초기 투약량은 적어도 6개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 또는 적어도 4년 또는 더 긴 기간 (예를 들어, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 적어도 10년, 또는 10년 초과, 예컨대 환자의 수명 동안)의 치료 기간 후 증가될 수 있다. 나아가, sALP (예를 들어, 서열번호:1)는 약 1.3 mg/kg/주, 약 2.7 mg/kg/주, 또는 약 6 mg/kg/주 또는 그 초과 (예를 들어, 약 9 mg/kg/주)의 투약량으로 투여를 위해 제형화될 수 있고, 예컨대 sALP는 약 2 mg/kg 매주 3회, 약 3 mg/kg 매주 2회, 약 3 mg/kg 매주 3회, 또는 약 1 mg/kg 매주 6회의 투약량으로 투여를 위해 제형화된다.

추가로, sALP 연속적인 또는 격일에 일당 1회 투여를 위해 제형화될 수 있다. 게다가, sALP (예를 들어, 서열번호:1)는 성인 HPP의 적어도 하나의 증상을 치료하기 위해 치료적으로 효과적인 양으로 투여를 위해 제형화될 수 있다 (예를 들어, 하기 중 하나 이상: 포스포에탄올아민 (PEA)의 상승된 혈액 및/또는 소변 수준, 아무기화, 과칼슘뇨증, 골격 기형, 어기적어기적 보행, 뼈 통증, 골절 (예를 들어, 척추 분쇄 골절, 전자하 골절, 또는 중족골 골절), 칼슘 파이로포스페이트 이수화물 결정 침착, 관절염, 파이로포스페이트 관절병증, 연골석회화증, 석회성 관절주위염, 및 가성골절).

- [0018] 제3양태에서, sALP (예를 들어, 서열번호:1)는 적어도 하나의 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제, 또는 부형제, 예컨대 염수 또는 염화나트륨 및 인산나트륨을 포함하는 조성물에서 투여를 위해 제형화될 수 있다. 예를 들어, 적어도 하나의 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제, 또는 부형제는 150 mM 염화나트륨 및 25 mM 인산나트륨을 포함한다. 나아가, 약제학적 조성물은 피하, 근육내, 정맥내, 경구, 비강, 설하, 척추강내, 또는 진피내 투여를 위해 제형화될 수 있다. 특히, 약제학적 조성물은 피하 투여를 위해 제형화된다.
- [0019] 임의의 상기 양태에서, 환자 (예를 들어, 미접촉, 약 18세 이상 연령의 소아-개시 HPP 환자)는 출산전후, 유아의, 또는 소아기 HPP의 증상의 존재에 기반하여 진단되지 않은 것, 예컨대 구루병, 구루병 늑골, 중증 아무기화, 발육 부전, 지연된 운동 발전, 부적절한 체중 증가, 폐형성 저하증, 호흡결핍, 호흡부전, 두개유합증 (두개유합증의 합병증을 포함함), 및 발작일 수 있다
- [0020] 임의의 상기 양태에서, 환자는 인간이다. 환자 (예를 들어, 미접촉, 약 18세 이상 연령의 소아-개시 HPP 환자)는 다음 sALP의 투여 후 이소성 석회화를 나타내지 않을 수 있다 (예를 들어, 서열번호:1). 예를 들어, 환자는 sALP의 투여 후 다음의 기간 동안 이소성 석회화를 나타내지 않는다: 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년 또는 더 오래, 예컨대 환자의 수명 동안. 나아가, 환자 (예를 들어, 약 13세 이상 연령의 HPP 환자로, 예컨대 미접촉, 약 18세 이상 연령의 소아-개시 HPP 환자)는 다음 sALP의 투여에 대해 하기의 내성을 나타낼 수 있다: (예를 들어, 서열번호:1), 예컨대 주사 부위 홍반, 헤모글로빈의 감소, 열증, 폐렴, 상부 기도 감염, 중이염, 구토, 변비, 설사, 치아 손실, 비인두염, 발진, 치과 이관, 및 자극감수성으로 구성된 군으로부터 선택된 유해 사례의 결여 또는 줄어든 발병률.
- [0021] 임의의 상기 양태에서, sALP (예를 들어, 서열번호:1)는 하기의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성된다: 서열번호:1. 예를 들어, sALP (예를 들어, 서열번호:1)는 PEA, PPi, 및 PLP에 대해 생리적으로 활성이고, 촉매적으로 뼈에서 골격 무기화를 개선하는 능력이 있고, 및/또는 알칼리성 포스포타제의 가용성 세포의 도메인이다.
- [0022] 임의의 상기 양태에서, sALP의 투여는 환자로부터의 혈장 샘플에서의 PPi 및/또는 PLP 농도의 기준선으로부터 최소 제곱 평균에서의 통계적으로 유의미한 변화를 초래할 수 있다. sALP의 투여는 약 2,000 U ×일/L 내지 약 7,000 U ×일/L의 AUC<sub>last</sub>를 초래할 수 있고, 여기서 AUC<sub>last</sub>는 제로 시간부터 투약 간격에서 최종 관측된 농도의 시간까지의 농도-시간 곡선하 면적에 동등하다. sALP의 투여는 약 4,000 U ×일/L 내지 약 10,000 U ×일/L의 AUC<sub>inf</sub>를 초래할 수 있고, 여기서 AUC<sub>inf</sub>는 제로 시간부터 무한대까지의 농도-시간 곡선하 면적에 동등하다. sALP의 투여는 약 3일 내지 약 8일의 t<sub>1/2</sub>을 초래할 수 있다.
- [0023] 정의
- [0024] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "a" 또는 "an"은 달리 나타내지 않는 한 "적어도 하나" 또는 "하나 이상의"를 의미한다. 또한, 단수 형태 "a", "an", 및 "the"는 문맥에서 달리 명확히 명시되지 않는 한 복수의 지시대상을 포함한다.
- [0025] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "약"은 인용된 값의 ± 10 %이고 바람직하게는 인용된 값의 ± 5 %, 또는 더 바람직하게는 인용된 값의 ± 2 %인 양을 지칭한다.
- [0026] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "적어도"는 인용된 값의 ≤ 10 %이고 바람직하게는 인용된 값의 ≤ 5 %, 또는 더 바람직하게는 인용된 값의 ≤ 2 %인 양을 지칭한다.
- [0027] "아스포타제 알파"는 HPP의 치료를 위해 제형화된 인간 TNALP (hTNALP) 융합 단백질질을 의미한다. 아스포타제 알파 (STRENSIQ®, Alexion Pharmaceuticals, Inc.)는 2개 동일한 폴리펩타이드 사슬의 가용성 당단백질을 포함한 융합 단백질로, 여기서 각각의 폴리펩타이드 사슬은 하기의 아미노산 잔기 1-726을 포함한다: 서열번호:1. 각각의 폴리펩타이드 사슬의 구조는 하기를 포함한다: hTNALP의 촉매 도메인, 인간 면역글로불린 G<sub>1</sub> Fc 도메인,

및 뼈 표적화 도메인으로 사용된 데카-아스파르테이트 펩타이드 (구조 hTNALP-Fc-D<sub>10</sub>) .2개 폴리펩타이드 사슬은 2개 디설파이드 결합에 의해 공유 결합된다. 아스포타제 알파는 미국, 유럽, 일본, 캐나다, 이스라엘, 호주 및 한국을 포함하여, 상표명 STRENSIQ® 하에서 전세계를 통해 승인되었다.

[0028] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "평균"은 데이터 세트의 평균 또는 중앙을 표시하는 수치를 지칭한다. 데이터 세트의 평균은 세트 내 값의 합을 그것의 수로 나눔에 의해 계산된다. 데이터 세트의 중앙은 홀수의 목록에서 중간 값을 결정하거나 또는 짝수의 목록에서 중간에서 2개 데이터 값의 평균을 결정함에 의해 계산된다.

[0029] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "뼈-표적화 모이어티"는 뼈-표적화 모이어티가 두드러지게 약 10<sup>-6</sup> M 내지 약 10<sup>-15</sup> M (예를 들어, 10<sup>-7</sup> M, 10<sup>-8</sup> M, 10<sup>-9</sup> M, 10<sup>-10</sup> M, 10<sup>-11</sup> M, 10<sup>-12</sup> M, 10<sup>-13</sup> M, 10<sup>-14</sup> M, 또는 10<sup>-15</sup> M)인 골 바탕질에 대한 생체내 결합 친화도를 갖도록 골 바탕질에 대해 충분한 친화성을 갖는 길이인 1 내지 50 아미노산 잔기의 아미노산 서열을 지칭한다.

[0030] 본 명세서에서 상호교환적으로 사용되는 바와 같이 용어들 "간결한 통증 목록-단형" 및 "BPI-SF"는 환자, 특히, HPP가 있는 환자 (예를 들어, 약 13세 이상 연령의 환자)의 통증을 측정하는 방법을 지칭한다. BPI-SF는, 전체적으로 본 명세서에 참고로 통합되는, Cleeland & Ryan (*Ann Acad Med Singapore*, 23(2), 129-138; 1994)에서 기재된 자가 보고된 통증 척도이다. BPI-SF는 통증의 중증도 및 매일 기능에 대한 통증의 영향을 평가하기 위해 설계된 설문지이다. BPI-SF는 설문지 투여 24시간 이내에 통증 중증도 (4 항목) 및 통증 간섭 (7 항목)을 평가하기 위해 수치적 평가 척도를 이용하는 11 항목으로 구성된다. BPI-SF 설문지는 통증의 강도 및 통증이 0 (통증 없음) 내지 10 (중증 통증 또는 통증에 의해 야기된 상당한 간섭); 보다 낮은 점수는 더 나은 삶의 질 결과 및 감소된 통증을 유발하는 것의 수치적 평가 척도로 환자 (예를 들어, 약 13세 이상 연령의 HPP 환자)의 매일 기능을 방해하는 정도에 대한 정보를 제공한다. 예를 들어, HPP 청소년 및 성인의 BPI-SF 점수는 11가지 통증 평가의 복합이다.

[0031] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어들 "운동 능력의 Bruininks-Oseretsky 테스트 2<sup>nd</sup> 판" 또는 "BOT-2"는 환자, 예를 들어, HPP가 있는 성인, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인에 대한 총 및 미세 운동 수행성의 표준화된 테스트의 제2 판을 지칭한다. 하기 참고: Bruininks, R.H.(2005). *Bruininks-Oseretsky Test of Motor Proficiency, (BOT-2)*. Minneapolis, MN:Pearson Assessment, 이것은 이로써 전체적으로 참고로 편입된다. BOT-2는 개별적으로 관리되어 일정 범위의 환자의 총 및 소 근육 운동 능력을 평가한다. BOT-2는, 예를 들어, HPP가 있는 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인)에서 신체적 손상 및 이동도 제한을 평가하기 위해 사용될 수 있다. BOT-2는 하기 예시적인 영역: 체력, 달리기 속도 및 민첩성, 소 근육 운동 정확성, 소 근육 운동 통합, 매뉴얼 기능력, 양손 협응, 밸런스, 및 상지 협응에서 복합 BOT-2 점수를 제공한다. 예를 들어, BOT-2 체력 총 점수는 환자가 섯-업, v-업, 제자리 멀리뛰기, 월릿, 및 푸시-업을 수행함에 의해 결정될 수 있다. 달리기 속도 및 민첩성 총 점수는 평균대를 통해 환자 스텝을 갖거나 셔틀 런, 2-레그 사이드 홉 또는 원-레그 사이드 홉을 수행하여 결정될 수 있다. BOT-2 총 체력 및 BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 총 점수 양자는 0 내지 25로, 여기서 약 10 내지 25의 점수는 건강한 대상체를 나타내는 것으로 간주된다. 체력과 달리기 속도 및 민첩성에 대한 표준 점수는 15 +/- 5이다. 성인 점수는 표준이 아니며 (확장된 점수를 사용하지 않음) 따라서 점수 값이 높을수록 성능이 향상되는 것을 나타낸다. 더 작은 샘플 크기 또는 더 작은 데이터 세트에 대해 중앙 점수가 바람직하지만, 평균 또는 중앙 점수 중 어느 하나가 사용될 수 있다.

[0032] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "촉매적으로 능숙한"은 무기 포스페이트 (Pi)를 제공하도록 뼈 무기화 억제제 무기 파이로포스페이트 (PPi)를 가수분해하고, 그것에 의해 PPi의 세포의 농도를 감소시키는 sALP를 지칭한다. 따라서, 촉매적으로 능숙한 sALP는 PPi의 농도를 조절함에 의해 뼈에서 골격 무기화를 개선한다.

[0033] "세포외 도메인"으로는 천연 단백질, 예를 들어, 알칼리성 포스파타제의 임의의 기능적 세포외 부분이 의미된다. 특히, 세포외 도메인은 신호 펩타이드를 결합한다.

[0034] "Fc"로는 면역글로불린의 단편 결정화가능 영역, 예를 들어, 면역글로불린 중쇄의 CH2 및 CH3 도메인을 포함하는 IgG-1, IgG-2, IgG-3, IgG-3 또는 IgG-4가 의미된다. Fc는 또한 Fab 및 Fc 영역을 연결하는 임의의 힌지 영역의 부분을 포함할 수 있다. Fc는 인간을 포함한 임의의 포유동물일 수 있고, 그리고 번역후에 변형될 수 있다 (예를 들어, 당화에 의한). 비-제한적인 예에서, Fc는 다음의 아미노산 서열을 갖는 인간 IgG-1의 단편 결정화가능 영역일 수 있다: 서열번호:20.

[0035] "단편"은 참조 핵산 분자 또는 폴리펩타이드의 전장 중, 바람직하게는, 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%,

70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 초과를 함유하는 폴리펩타이드 또는 핵산 분자를 의미한다. 단편은, 예를 들어, 폴리펩타이드의 전장까지, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 400, 500, 600, 700, 또는 그 초과 아미노산 잔기를 함유할 수 있다. 예시적인 sALP 단편은 다음 ALP의 아미노산 잔기 18-498, 18-499, 18-500, 18-501, 18-502, 18-503, 18-504, 18-505, 18-506, 18-507, 18-508, 18-509, 18-510, 18-511, 또는 18-512를 가질 수 있고 (예를 들어, 서열번호:2-6), 그리고 추가의 C-말단 및/또는 N-말단부를 포함할 수 있다.

[0036] 본 명세서에서 상호교환적으로 사용되는 바와 같이 용어들 "포켓용 동적측정" 및 "HHD"는 대상체, 특히, 약 13세 이상 연령의 HPP가 있는 대상체의 파지 및 근육강도를 측정하는 방법을 지칭한다. 동적측정기는 HPP가 있는 대상체의 악력, 무릎 구부리기, 무릎 연장, 고관절 구부리기, 고관절 연장, 및 고관절 외전을 평가하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 약 13세 이상 연령의 HPP가 있는 대상체의 무릎 구부리기 및 연장 그리고 또한 고관절 구부리기, 연장, 및 외전은, 예를 들어, MICROFET2TM 동적측정기를 사용하여 측정될 수 있고, 반면에 대상체의 악력은, 예를 들어, JAMAR® 파지 동적측정기를 사용하여 측정될 수 있다. 특히, 관리자가 동적측정기를 정지 상태로 잡고, 대상체는 상기 동적측정기에 대해 최대 힘을 발휘한다. 피크 힘 데이터는 파운드로 수집되고, 그 다음 뉴턴 (N)으로 전환된다. 토크 값은 그런 다음 N-미터로 팔다리 길이를 사용하여 계산된다. 토크 값은 그 다음, 예를 들어, 대략 동일한 연령, 동일한 성별, 및/또는 동일한 키의 정상 대상체에 비교될 수 있고, 그리고 백분율 값으로 표시되어 대상체의 HHD 점수를 발생시킨다.

[0037] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어들 "저포스포타제증" 또는 "HPP"는, 예를 들어, 조직-비특이적 알칼리성 포스포타제 (TNALP)를 인코딩하는 ALPL (알칼리성 포스포타제, 간/뼈/신장) 유전자에서의 하나 이상의 기능상실 돌연변이에 의해 야기된 희귀한, 유전 골격 장애를 지칭한다. HPP는 유아의 HPP, 소아기 HPP, 출산전후 HPP (예를 들어, 양성 출산전후 HPP 또는 치명적인 출산전후 HPP), 치아-HPP, 청소년 HPP, 또는 성인 HPP를 추가로 특징으로 할 수 있다. 예를 들어, "성인 HPP"는 18세 이상 연령인 HPP가 있는 환자를 기술한다. "청소년 HPP"는 하기 나이인 HPP가 있는 환자를 기술한다: 약 13세 내지 약 17세. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "성인 HPP"는 하기 증상 중 하나 이상의 존재에 의해 특징되는 병태 또는 표현형을 지칭한다: 무기 파이로포스페이트 (PPi)의 상승된 혈액 및/또는 소변 수준, 포스포에탄올아민 (PEA), 또는 피리독살 5'-포스페이트 (PLP), 아무기화, 과칼슘뇨증, 골격 기형, 어기적어기적 보행, 뼈 통증, 골절 (예를 들어, 척추 분쇄 골절, 전자하 골절, 또는 중족골 골절), 칼슘 파이로포스페이트 이수화물 결정 침착, 관절염, 파이로포스페이트 관절병증, 연골석회화증, 석회성 관절주위염, 및 가성골절. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "청소년 HPP"는 하기 증상 중 하나 이상의 존재에 의해 특징되는 병태 또는 표현형을 지칭한다: PPi, PEA, 또는 PLP의 상승된 혈액 또는 소변 수준, 골연화증, 하나 이상의 골격 기형, 긴장저하, 근육 약화, 류마티스성 합병증, 관절염, 가성통풍, 어기적어기적 보행, 보행의 어려움, 뼈 통증, 통증, 미성숙한 치아의 손실, 아무기화, 폐형성 저하증, 호흡결핍, 발작, 과칼슘뇨증, 단간, 및 성장 지연.

[0038] 본 명세서에서 상호교환적으로 사용되는 바와 같이 용어들 "하지 기능 척도" 및 "LEFS"는 환자, 특히, HPP가 있는 환자 (예를 들어, 약 13세 이상 연령의 환자)의 하지에서의 기능적 장애를 측정하는 방법을 지칭한다. LEFS는, 전체적으로 본 명세서에 참고로 통합된, Binkley et al. (*Phys Ther.* 79:371-83, 1999)에 기재된 자기 보고된 척도이다. 총 LEFS 점수는 0 내지 80의 범위로 더 높은 점수는 더 나은 하지 기능화를 나타낸다. 약 9점의 LEFS 점수 변화는 임상적으로 유의미한 변화로 간주된다. 허가받은 물리적 치료사는 인터뷰 형식으로 HPP 환자 (예를 들어, 약 13세 이상 연령의 HPP 환자)에 대해 LEFS를 관리할 수 있다. 보다 높은 LEFS 점수는 하기를 포함하는 개선된 하지 기능화를 나타낸다: 이행적 운동 (예를 들어, 육조에서 나오거나 침대에서 구르기), 운동 (예를 들어, 고르지 못한 지면 상에서 걷기 또는 달리기), 계단 오르기, 및 스퀴팅. LEFS는 경시적으로 환자를 모니터링하고 아스포타제 알파 치료의 유효성을 평가하는 능력을 포함하여, HPP 환자의 하나 또는 둘 모두 하지의 기능적 손상을 평가하기 위해 사용될 수 있다.

[0039] "미접촉 환자" 또는 "미접촉 대상체"는 다음 sALP와 같은, 알칼리성 포스포타제, 또는 알칼리성 포스포타제 활성을 갖는 폴리펩타이드로 이전에 치료를 받지 않은 소아-개시 HPP를 갖는 환자 또는 대상체를 의미한다 (예를 들어, TNALP, 예를 들어 하기의 sALP 폴리펩타이드: 서열번호:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파).

[0040] 용어들 "소아-개시 저포스포타제증" 및 "소아-개시 HPP"는 대상체에서 약 18세 이전에 HPP 증상의 발생을 지칭한다.

- [0041] 용어들 "폴리펩타이드"와 "단백질"은 상호교환적으로 사용되고 번역후 변형 (예를 들어, 당화 또는 인산화)에 무관하게, 본 명세서에서 기재된 바와 같은, 자연 발생 또는 비-자연 발생 폴리펩타이드 또는 펩타이드의 모두 또는 일부를 구성하는 2 또는 그 초과와 천연 또는 비천연 아미노산 잔기의 임의의 사슬을 지칭한다.
- [0042] "약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제, 또는 부형제"는 각각 이것이 투여된 약제학적 조성물의 치료적 특성을 유지하면서 대상체 (예를 들어, 인간)에 생리적으로 허용가능한 담체, 희석제, 또는 부형제를 의미한다. 하나의 예시적인 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제, 또는 부형제는 생리식염수이다. 예를 들어, 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제, 또는 부형제는 염화나트륨 (예를 들어, 150 mM 염화나트륨) 및 인산나트륨 (예를 들어, 25 mM 인산나트륨)을 포함할 수 있다. 다른 생리적으로 허용가능한 담체, 희석제, 또는 부형제 및 그것의 제형은 당해 분야의 숙련가에게 알려져 있다.
- [0043] "약제학적 조성물"은 적어도 하나의 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제, 또는 부형제로 제형화된 본 명세서에서 기재된 바와 같은 폴리펩타이드 (예를 들어, sALP, 예컨대 아스포타제 알파를 포함하는 조성물)를 포함하는 조성물을 의미한다. 약제학적 조성물은 환자에서 질환 또는 사건의 치료 또는 예방을 위한 치료 요법의 일부로서 정부 관리 기관의 승인하에 제조되거나 또는 판매될 수 있다. 약제학적 조성물은, 예를 들어, 피하 투여, 정맥내 투여를 위해 (예를 들어, 미립자 엠볼리가 없는 멸균 용액 및 정맥내 사용에 적합한 용매계로), 경구 투여를 위해 (예를 들어, 정제, 캡슐, 타원형 당의정, 젤라틴 캡슐, 또는 시럽), 또는 본 명세서에 기재된 임의의 다른 제형, 예를 들어, 단위 투약 형태로 제형화될 수 있다.
- [0044] 용어 "신체적 손상"은 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 하기에 대해 지칭한다: 생리적 병태, 예컨대, 예를 들어, 걷기 능력, 기능적 지구력, 및 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인)의 일상 생활 활동 (ADL)을 수행하는 능력을 제한하거나 또는 제거할 수 있는 HPP와 연관된 뼈 약화 및 근육 약화. 특히, 신체적 손상은, 건강한 대상체가 지원을 요함이 없이, 기능적 이동성 또는 이동 (예를 들어, 걷기), 목욕 및 샤워, 드레싱, 자가-수유, 개인 위생 및 손질과 같은 1일 기준으로 수행하는 일상적인 활동인 ADL을 수행하는 환자의 능력을 제한하거나 제거할 수 있다. 본 명세서에서 기재된 바와 같이, 치료적 조성물 (예를 들어, sALP, 예컨대 아스포타제 알파를 포함하는 조성물)은 HPP 표현형과 연관된 신체적 손상의 중증도 및/또는 빈도를 감소시키고 및/또는 환자의 걷기 능력 (예를 들어, 6분에 걸쳐 환자가 걸은 거리로부터 결정된 걷기 능력)을 증가시키기 위해 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인)에게 투여될 수 있다.
- [0045] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "생리적으로 활성화"는 하기를 지칭한다: sALP (예를 들어, 서열번호:1)로 이것은 포스포에탄올아민 (PEA), 무기 파이로포스페이트 (PPi), 및 피리독살 5'-포스페이트 (PLP)를 가수분해하여 Pi를 제공하고, 그것에 의해 PEA, PPi, 및 PLP의 세포외 농도를 감소시킨다.
- [0046] 용어들 "sALP," "가용성 알칼리성 포스파타제," 및 "알칼리성 포스파타제의 세포외 도메인"은 상호교환적으로 사용되고 가용성, 비-막-결합 알칼리성 포스파타제 또는 도메인, 그것의 생물학적 활성 단편, 또는 생물학적 활성 변이체를 지칭한다. sALP는, 예를 들어, C-말단 당지질 앵커를 결하는 알칼리성 포스파타제를 포함한다 (다음 인간 TNALP의 아미노산 잔기 18-502를 포함하거나 이로 구성된 GPI 신호서열, 예를 들어, 폴리펩타이드: 인간 TNALP (서열번호:2, 3, 4, 5, 또는 6)). 특히, TNALP는, 예를 들어, 하기를 포함할 수 있다: 하기의 서열번호의 아미노산 잔기 1-485를 포함하거나 이로 구성되는 폴리펩타이드: 서열번호:1, 예컨대 아스포타제 알파, 또는 하기의 서열번호의 아미노산잔기 1-485에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체: 서열번호:1.sALP은, 예를 들어, 다음의 포유동물 오쏘로그를 추가로 포함한다: 인간 TNALP, 예컨대 레우스 TNALP (서열번호:7), 랫트 TNALP (서열번호:8), 개과 TNALP (서열번호:9), 돼지 TNALP (서열번호:10), 쥐과 TNALP (서열번호:11), 소과 TNALP (서열번호:12-14), 또는 고양이 TNALP (서열번호:15). sALP는 또한 하기의 가용성, 비-막-결합 형태를 포함한다: 인간 PALP (예를 들어, 하기의 서열번호의 아미노산 잔기 18-502를 포함하거나 이로 구성되는 폴리펩타이드: 서열번호:16 또는 17), GCALP (예를 들어, 하기의 서열번호의 아미노산 잔기 18-502를 포함하거나 이로 구성되는 폴리펩타이드: 서열번호:18), 및 IALP (예를 들어, 하기의 서열번호의 아미노산 잔기 18-502를 포함하거나 이로 구성되는 폴리펩타이드: 서열번호:19), 및 알칼리성 포스파타제 활성, 예를 들어, PPi를 가수분해하는 능력을 보유하는 부가의 그것의 변이체 및 유사체.sALP는 특히 N-말단 신호 펩타이드를 결한다 (예를 들어, 하기의 aa 1-17: 서열번호:2-6, 8, 11-13, 또는 15 또는 하기의 aa 1-25: 서열번호:7).
- [0047] "sALP 폴리펩타이드"는 구조 A-sALP-B를 갖는 폴리펩타이드를 의미하고, 여기서 sALP는 본 명세서에서 정의된 바와 같고 각각의 A 및 B는 부재이거나 적어도 하나의 아미노산의 아미노산 서열이다 (예를 들어, 본 명세서에 기재된 임의의 sALP 융합 폴리펩타이드 (예를 들어 하기의 sALP 융합 폴리펩타이드: 서열번호:1 또는 다음 서열

번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파).

- [0048] "신호 펩타이드"는 폴리펩타이드가 분비성 경로 (예를 들어, 세포외 공간)로 향하는 폴리펩타이드의 N-말단에서의 짧은 펩타이드 (5-30 아미노산 길이)를 의미한다. 신호 펩타이드는 폴리펩타이드의 분비 동안 전형적으로 절단된다. 신호 서열은 폴리펩타이드를 세포내 구획 또는 소기관, 예를 들어, 골지 장치로 향하게 할 수 있다. 신호 서열은 폴리펩타이드를 세포의 특정 영역에 표적화하는 알려진 기능으로 펩타이드에 대해 상동성, 또는 생물학적 활성에 의해 확인될 수 있다. 당해 분야의 숙련가는 쉽게 이용가능한 소프트웨어를 사용하여 신호 펩타이드를 확인할 수 있다 (예를 들어, Genetics Computer Group의 서열 분석 소프트웨어 패키지, 위스콘신 대학교 생명공학 센터, 1710 University Avenue, Madison, Wis.53705, BLAST, 또는 PILEUP/PRETTYBOX 프로그램). 신호 펩타이드는, 예를 들어, 하기의 것에 실질적으로 동일한 것일 수 있다: 아미노산 잔기 1-17의 서열번호:2-6 또는 아미노산 잔기 1-25의 서열번호:7.
- [0049] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 폴리펩타이드 또는 핵산 서열이 기준 서열에 "적어도 X% 서열 동일성"을 갖는 것으로 언급될 때, 여기서 "X"는 실수이고, 폴리펩타이드 또는 핵산 내 아미노산 잔기 또는 뉴클레오타이드의 적어도 X 퍼센트가 서열이 최적으로 정렬될 때 기준 서열의 것에 동일하다는 것을 의미한다. 서열의 최적의 정렬은 예를 들어, Smith Waterman 정렬 알고리즘 (Smith 등, *J. Mol. Biol.* 147:195-7, 1981) 및 다음의 BLAST 같이 당 업계의 기술 내에서 다양한 방식으로 결정될 수 있다: BLAST (Basic Local Alignment Search Tool; Altschul 등, *J. Mol. Biol.* 215:403-10, 1990). 이들 및 다른 정렬 알고리즘은 공공연하게 이용가능한 컴퓨터 소프트웨어 예컨대 "최량 적합" (Smith 및 Waterman, *Advances in Applied Mathematics*, 482-489, 1981)으로 GeneMatcher Plus (Schwarz and Dayhoff, *Atlas of Protein Sequence and Structure*, Dayhoff, M.O., Ed. pp 353-358, 1979)에 편입된 것, BLAST, BLAST-2, BLAST-P, BLAST-N, BLAST-X, WU-BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2, CLUSTAL, Megalign (DNASTAR), 또는 정렬에 대한 다른 소프트웨어/하드웨어를 사용하여 접근가능하다. 또한, 당해 분야의 숙련가는 비교되는 서열의 길이에 걸쳐 최적의 정렬을 달성하기 위해 필요한 임의의 알고리즘을 포함한, 정렬을 측정하는 적절한 파라미터를 결정할 수 있다.
- [0050] 용어들 "환자" 또는 "대상체"는 비제한적으로, 인간 또는 비-인간 포유동물, 예컨대 소과, 말, 개과, 양, 또는 고양이를 포함한 포유동물을 지칭한다. 특히 관심의 대상은 인간 환자이다.
- [0051] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "비경구 투여," "비경구로 투여된" 및 다른 문법적으로 동등한 어구는 일반적으로 주사로, 장관 및 국소 투여 이외의 투여 방식을 지칭하고, 비제한적으로, 피하, 진피내, 정맥내, 비강내, 안구내, 폐, 근육내, 동맥내, 척추강내, 관절내, 안와내, 심장내, 진피내, 폐내, 복강내, 경기관, 표피하, 관절내, 피막밑, 지주막하, 척수내, 경막외, 뇌내, 두개내, 경동맥내, 및 흉골내 주사 및 주입을 포함한다.
- [0052] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "6분 걷기 테스트" 및 "6MWT"는 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인)의 걷기 능력, 특히, 환자가 각각의 발을 차례로 들어 올리고 내리는 능력을 평가하기 위해 표준화된 테스트를 지칭한다. 미국 흉부 학회: 6-분 걷기 테스트에 대한 지침 (*American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 166(1): 111-7, 2002)을 참고하고, 이는 전체적으로 본 명세서에 참고로 통합된다. 6MWT는 6분의 기간에 평평하고 단단한 표면 상을 환자가 걸은 거리 (예를 들어, 미터 단위)로부터 결정된다. 6MWT 거리는 그런 다음 기준선에 있는 환자의 6MWT 거리, 미치료된 대상체 (예를 들어, 대략 동일한 연령, 키, 및/또는 성별의 미치료된 대상체)의 6MWT 거리, 또는 건강한 대상체 (예를 들어, 대략 동일한 연령, 키, 및/또는 성별의 건강한 대상체)의 6MWT 거리에 비교될 수 있고 6MWT 값을 결정하기 위해 백분율로 표시된다.
- [0053] "치료적 유효량"은 하기와 같은 것을 의미한다: 폴리펩타이드 (예를 들어, sALP, 예컨대 서열번호:1) 또는 본 명세서에 기재된 핵산 분자로 성인 HPP의 적어도 하나의 증상 (예를 들어, PPI의 상승된 혈액 및/또는 소변 수준, PLP, 및 PEA, 아무기화, 과칼슘뇨증, 골격 기형, 어기적어기적 보행, 뼈 통증, 골절, 칼슘 파이로포스페이트 이수화물 결정 침착, 관절염, 파이로포스페이트 관절병증, 연골석회화증, 석회성 관절주위염, 및 가성골절)을 실질적으로 개선하거나, 치료하거나, 예방하거나, 억제하거나 또는 억류하기에 충분한 양.본 명세서에 기재된 조성물의 치료적 유효량은 치료되는 장애 및 병태의 중증도, 체중, 및 일반적인 환자의 상태에 의존할 수 있고, 이러한 인자를 고려하여 통상적인-숙련가에 의해 결정될 수 있다. 본 명세서에 기재된 조성물의 치료적 유효량은 단일 용량으로 또는 일정 기간에 걸쳐 투여된 다중 용량으로 환자에게 투여될 수 있다.
- [0054] "치료하는", "치료한다" 또는 "치료"는, 예를 들어, 다음 약제학적 조성물을 투여함에 의해, 성인 HPP의 가능성을 치료, 개선, 안정화, 감소시키거나 또는 예방하는 의도로 환자의 의료 관리 및/또는 성인 HPP를 나타내거나 또는 가지기 쉬운 환자의 관리를 의미한다 (예를 들어, sALP, 예컨대 서열번호:1). 이 용어는 활성 치료, 즉,

구체적으로 개선에 대해 지향되거나 또는 질환, 병리 상태, 장애, 또는 사건의 치료와 연관된 치료를 포함하고 또한 원인 요법, 즉, 연관된 질환, 병리 상태, 장애, 또는 사건의 원인의 제거에 대해 지향된 치료를 포함한다. 또한, 이 용어는 완화 치료, 즉, 질환, 병리 상태, 장애, 또는 사건의 치료보다는 적어도 하나의 증상의 완화 또는 개선을 위해 설계된 치료; 증상 치료, 즉, 연관된 질환, 병리 상태, 장애, 또는 사건의 전신 증상에 대해 지향된 치료; 예방적 치료, 즉, 예를 들어, 아직 질환에 걸리지 않았지만 특정 질환, 병리 상태, 장애, 또는 사건에 민감하거나, 또는 달리는 걸릴 위험에 있는 환자에서 연관된 질환, 병리상태, 장애, 또는 사건의 전개를 최소화하거나 또는 부분적으로 또는 완전히 억제하기 위해 지향된 치료; 및 지지적 치료, 즉, 연관된 질환, 병리상태, 장애, 또는 사건의 개선에 대해 지향된 또 다른 특이적 요법을 보충하기 위해 이용된 치료를 포함한다.

[0055] 본 개시내용의 다른 특징 및 이점은 하기 상세한 설명, 도면, 및 청구항으로부터 명백할 것이다.

[0056] [도면의 간단한 설명]

[0057] **도 1A-1B**는 하기를 도시하는 그래프이다: 하기에서 중앙 변화: 무기 파이로포스페이트 (PPi; 도 1A) 및 피리독살 5'-포스페이트 (PLP; 도 1B) 농도로 기준선부터 다음까지의 성인 소아-개시 저포스파타제증 (HPP) 환자로부터의 혈장 샘플에서의 것: 아스포타제 알파로 치료 6개월. 데이터는 중앙 (최소, 최대)으로 제시되어 있다. <sup>a</sup> P값은 조합된 아스포타제-알파 치료된 그룹 (0.3 mg/kg/1일 및 0.5 mg/kg/1일의 아스포타제 알파의 투약량을 투여한 성인 HPP 환자)을 미치료된 대조군 그룹과 비교한다. 혈장 PPi 및 PLP 농도에 대해 평가된 치료된 환자 및 미치료된 대조군 대상체의 수 (n)가 도시되어 있다.

[0058] **도 2**는 다음과 같은 성인 소아-개시 HPP 환자로부터의 혈장 샘플에서 중앙 PPi 농도를 도시하는 그래프이다: 투여된 아스포타제 알파는 6년의 치료 기간에 걸침. 18세 초과 연령의 건강한 대상체에 대한 PPi 농도의 상부 정상 한계 및 하부 정상 한계가 도시되어 있다. 대조군 그룹은 조합된 치료된 그룹 6개월 후에 아스포타제 알파로 치료를 개시했다. 프로토콜 수정을 통한 6 mg/kg/주의 투약량으로 아스포타제 알파가 증가되는 치료 기간이 도시되어 있다. <sup>a</sup> P < 0.0001은 6개월에서 기준선으로부터 중앙 혈장 PPi 농도에서 변화임.

[0059] **도 3**은 다음과 같은 성인 소아-개시 HPP 환자로부터의 혈장 샘플에서 중앙 PLP 농도를 도시하는 그래프이다: 투여된 아스포타제 알파는 6년의 치료 기간에 걸침. 18세 초과 연령의 건강한 대상체에 대한 PLP 농도의 상부 정상 한계 및 하부 정상 한계가 도시되어 있다. 대조군 그룹은 조합된 치료된 그룹 6개월 후에 아스포타제 알파로 치료를 개시했다. 프로토콜 수정을 통한 6 mg/kg/주의 투약량으로 아스포타제 알파가 증가되는 치료 기간이 도시되어 있다. <sup>a</sup> P < 0.0001은 6개월에서 기준선으로부터 중앙 혈장 PPi 농도에서 변화임.

[0060] **도 4**는 하기를 도시하는 그래프이다: 성인 소아-개시 HPP 환자의 예상된 퍼센트 중앙 6분 걸기 테스트 (6MWT) 거리로 6년의 치료 기간에 걸쳐 아스포타제 알파가 투여된 환자. 중앙, 최소, 최대, 및 n 값은 각 시간 간격 (기준선, 6개월, 1년, 2년, 3년, 4년, 5년, 및 6년)에 대해 도시되어 있다. 영역은 건강한 나이-매칭되고 키-매칭된 동년배에 대한 6MWT 거리에 대한 정상 범위를 나타낸다. 대조군 그룹은 조합된 치료된 그룹 6개월 후에 아스포타제 알파로 치료를 개시했다. 프로토콜 수정을 통한 6 mg/kg/주의 투약량으로 아스포타제 알파가 증가되는 치료 기간이 도시되어 있다. <sup>a</sup> HPP 환자로 0.3 mg/kg/1일 및 0.5 mg/kg/1일의 아스포타제 알파를 프로토콜 수정 이전 투여 받은 것에서 6 mg/kg/주로 전체 치료 기간 동안 조합되었다.

[0061] **도 5**는 하기 성인 소아-개시 HPP 환자에 대한 중앙 총 운동 능력의 Bruininks-Oseretsky 테스트, 제2판 (BOT-2) 달리기 속도 및 민첩성 테스트 점수를 나타내는 그래프이다: 아스포타제 알파가 6년의 치료 기간에 걸쳐 투여된 환자. 중앙, 최소, 최대, 및 n 값은 각 시간 간격 (기준선, 6개월, 1년, 2년, 3년, 4년, 5년, 및 6년)에 대해 도시되어 있다. 대조군 그룹은 조합된 치료된 그룹 6개월 후에 아스포타제 알파로 치료를 개시했다. 기준선에 대해, 0.3 mg/kg/1일 및 0.5 mg/kg/1일의 아스포타제 알파를 프로토콜 수정 이전에 투여 받은 HPP 환자는 6 mg/kg/주로 전체 치료 기간 동안 조합되었다.

[0062] **도 6**은 하기 성인 소아-개시 HPP 환자에 대한 중앙 총 BOT-2 체력 테스트 점수를 나타내는 그래프이다: 6년의 치료 기간에 걸쳐 아스포타제 알파 투여된 환자. 중앙, 최소, 최대, 및 n 값은 각 시간 간격 (기준선, 6개월, 1년, 2년, 3년, 4년, 5년, 및 6년)에 대해 도시되어 있다. 대조군 그룹은 조합된 치료된 그룹 6개월 후에 아스포타제 알파로 치료를 개시했다. 기준선에 대해, 0.3 mg/kg/1일 및 0.5 mg/kg/1일의 아스포타제 알파를 프로토콜 수정 이전에 투여 받은 HPP 환자는 6 mg/kg/주로 전체 치료 기간 동안 조합되었다.

[0063] **도 7**은 아스포타제 알파로 치료의 초기 단계에서 (기준선으로부터) 6개월까지 및 아스포타제 알파로 치료의 확장 단계 (치료의 6개월부터 치료의 5 또는 그 초과 년)를 포함한, 5년의 기간에 걸쳐 HPP가 있는 청소년 및 성

인에 대한 아스포타제 알파를 투여하기 위한 연구 설계를 나타내는 개략도이다. <sup>a</sup>아스포타제 알파의 용량은 체중 변화에 대해 3개월마다 조정되었고; 최대 용량은 의료 모니터의 상담 후 조사자가 80 mg 초과 용량 승인하지 않는 한 80 mg의 아스포타제 알파였다. <sup>b</sup>아스포타제 알파의 용량은 모든 환자에서 프로토콜 수정에 의해 증가되었다. 확장 단계 동안, 모든 환자는 대략 6개월 내지 1년 동안 0.5 mg/kg/주에서의 1일 용량의 아스포타제 알파를 초기에 투여 받았고, 이것은 후에 6일/주로 1 mg/kg으로 변화되었다.

[0064] 도 8은 연구의 상이한 단계에서 청소년 및 성인 HPP 환자의 수를 도시하는 도식이다 (스크리닝, 무작위화, 기준선부터 아스포타제 알파 치료의 6개월까지의 일차 치료 기간, 6개월부터 아스포타제 알파 치료의 1년까지의 개방 라벨 연장 기간, 및 아스포타제 알파의 투약량이 연구의 5년째까지 6일/주 투여된 1 mg/kg/1일로 증가되는 기간).

[0065] 도 9A-B는 하기를 나타내는 그래프이다: 하기의 중앙 변화: 피리독살 5'-포스페이트 (PLP; 도 9A) 및 무기 파이로포스페이트 (PPi; 도 9B) 농도로는 기준선으로부터 하기까지의 청소년 및 성인 HPP 환자로부터의 혈장 샘플에서의 것임: 아스포타제 알파로 치료의 6개월. 데이터는 중앙 (최소, 최대)으로 제시되어 있다. <sup>a</sup> P값은 하기를 비교한다: 조합된 아스포타제-알파 치료된 그룹 (성인 및 청소년 HPP 환자로 하기의 투약량을 투여 받음: 0.3 mg/kg/1일 및 0.5 mg/kg/1일의 아스포타제 알파)을 미치료된 대조군 그룹과 비교. 혈장 PPi 및 PLP 농도에 대해 평가된 치료된 환자 및 미치료된 대조군 대상체의 수 (n)가 도시되어 있다.

[0066] 도 10A-10B는 5년의 치료 기간에 걸쳐 아스포타제 알파 투여된 청소년 및 성인 HPP 환자로부터 혈장 샘플에서 중앙 PLP (도 10A) 및 PPi (도 10B) 농도를 도시하는 그래프이다. 건강한 대상체에 대한 PPi 및 PLP 농도의 상부 정상 한계 및 하부 정상 한계가 또한 도시되어 있다. 대조군 그룹은 조합된 치료된 그룹 6개월 후에 아스포타제 알파로 치료를 개시했다. 프로토콜 수정을 통한 6 mg/kg/주의 투약량으로 아스포타제 알파가 증가되는 치료 기간이 도시되어 있다.

[0067] 도 11A-11B는 5년의 치료 기간에 걸쳐 아스포타제 알파 투여된 청소년 및 성인 HPP 환자의 6MWT에서 걸은 중앙 거리 (도 11A) 및 예상된 중앙 6MWT 거리 퍼센트 (도 11B)를 도시하는 그래프이다. 중앙, 최소, 최대, 및 n 값은 각 시간 간격 (기준선, 6개월, 1년, 2년, 3년, 4년, 및 5년)에 대해 도시되어 있다. 영역은 건강한 나이-매칭되고 키-매칭된 동년배에 대한 6MWT 거리에 대한 정상 범위를 나타낸다. 대조군 그룹은 조합된 치료된 그룹 6개월 후에 아스포타제 알파로 치료를 개시했다. 프로토콜 수정을 통한 6 mg/kg/주의 투약량으로 아스포타제 알파가 증가되는 치료 기간이 도시되어 있다.

[0068] 도 12A-12B는 HPP가 있는 청소년 (도 12A) 및 소아-개시 HPP가 있는 성인 (도 12B)에서 스크리닝 및 기준선에서의 6MWT 동안 걸은 거리 사이의 상관관계를 도시하는 그래프이다.

[0069] 도 13은 5년의 치료 기간에 걸쳐 아스포타제 알파 투여된 청소년 및 성인 HPP 환자에 대한 중앙 총 BOT-2 달리기 속도와 민첩성 테스트 점수 및 중앙 총 BOT-2 체력 테스트 점수에서 기준선으로부터의 변화를 나타내는 그래프이다. 중앙, 최소, 최대, 및 n 값은 각 시간 간격 (기준선, 6개월, 1년, 2년, 3년, 4년, 및 5년)에 대해 도시되어 있다. 대조군 그룹은 조합된 치료된 그룹 6개월 후에 아스포타제 알파로 치료를 개시했다. 기준선에 대해, 0.3 mg/kg/1일 및 0.5 mg/kg/1일의 아스포타제 알파를 프로토콜 수정 이전에 투여 받은 HPP 환자는 6 mg/kg/주로 전체 치료 기간 동안 조합되었다.

[0070] 도 14는 단계 2a 임상 시험 동안 다양한 농도에서 아스포타제 알파를 투여 받은 환자의 투약 계획을 도시하는 개략도이다.

[0071] 도 15는 하기를 도시하는 그래프이다: 단계 2a 임상 시험 동안 기준선으로부터 사전-3<sup>rd</sup> 용량 9주째까지의 PPi에서의 최소 제곱 평균 (LSM) 간의 관측된 유의한 차이.

[0072] 도 16은 하기를 도시하는 그래프이다: 단계 2a 임상 시험 동안 기준선으로부터 사전-3<sup>rd</sup> 용량 9주째까지의 PLP에서의 LSM 간의 관측된 유의한 차이.

[0073] 도 17A-17B는 각각의 투약량 집단의 투약 계획 (도 17A) 및 약동학적, 약력학, 및 면역원성 평가의 스케줄 (도 17B)을 도시하는 개략도이다.

[0074] 도 18A-18B는 1일째 초기 용량 후 (도 18A) 및 61일째 다중 투약 사건 후 (도 18B) 매일 각각의 투약량 집단 (0.5 mg/kg 3×/주, 2 mg/kg 3×/주, 및 2 mg/kg 3×/주)에서 아스포타제 알파 활성 (U/L)의 개별 PK 프로파일

을 도시하는 그래프이다.

[0075] **도 19A-19C**는 1일째 초기 용량 후 (도 20A), 15-61일째 사이의 다중 투약 사건 후 (도 19B) 및 61일째 다중 투약 사건 후 (도 19C) 매일 각각의 투약량 집단에서 아스포타제 알파 알파 활성 (U/L)의 PK 프로파일의 평균  $\pm$  SD를 나타내는 그래프이다.

[0076] **도 20A-20B**는 1일째 초기 용량 후 (도 20A) 및 61일째 다중 투약 사건 후 (도 20B) 매일 각각의 투약량 집단에서 아스포타제 알파 활성 (U/L) 보정한 평균  $\pm$  SD 용량을 나타내는 그래프이다.

[0077] **도 21**은 아스포타제 알파  $C_{avg,ss}$  노출 사분위수에 의한 기준선 (CBL) PPI로부터 61일째 변화를 나타내는 그래프이다. CBL PPI 값의 중앙 값은 박스의 중심에 있는 라인에 의해 지정된다. 박스는 인터-사분위수 범위 (IQR)를 나타낸다. 위스커는  $1.5 \times IQR$ 을 표시한다. 특이점은 채워진 원에 의해 위스커의 외부에 마킹되어 있다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0078] 본 발명자들은 다음을 발견했다: 아스포타제 알파 (서열번호:1, STRENSIQ®, Alexion Pharmaceuticals, Inc.)는 연장된 기간 동안 (예를 들어, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 적어도 10년, 또는 10년보다 더 오래, 예컨대 환자의 수명 동안) HPP가 있는 성인 (예를 들어, 약 18세 이상 연령의 HPP가 있는 성인, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 HPP가 있는 청소년 (예를 들어, 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)에서 저포스파타제증 (HPP), 그것의 증상, 및 이와 연관된 신체적 손상을 치료하기 위해 효과적으로 사용될 수 있다는 것. 특히, 아스포타제 알파 (서열번호: 1)는 신체적 손상 (예를 들어, 뼈 또는 근육 약화), 건강한 대상체 (예를 들어, 대략 동일한 연령, 성별, 및/또는 키의 HPP가 없는 대상체)에 비하여 줄어든 걷기 능력, 건강한 대상체 (예를 들어, 대략 동일한 연령, 같은 성별, 및/또는 키의 HPP가 없는 대상체)에 비하여 샘플 (예를 들어, 혈장 샘플)에서 줄어든 알칼리성 포스파타제 (ALP) 수준, 건강한 대상체 (예를 들어, 대략 동일한 연령, 같은 성별, 및/또는 키의 HPP가 없는 대상체)에 비하여 줄어든 파지 및 근육 강도, 건강한 대상체 (예를 들어, 대략 동일한 연령, 같은 성별, 및/또는 키의 HPP가 없는 대상체)에 비하여 하지에서 줄어든 기능적 장애, 또는 건강한 대상체 (예를 들어, 대략 동일한 연령, 같은 성별, 및/또는 키의 HPP가 없는 대상체)에 비하여 증가된 통증을 나타내는 HPP가 있는 성인 또는 청소년을 치료하기 위해 투여될 수 있다. 게다가, HPP가 있는 성인 또는 청소년은 하기로 이전에 치료를 받지 않은 미접촉 환자일 수 있다: 아스포타제 알파 (서열번호:1).

[0079] 다음과 같은 투여하는 방법: 아스포타제 알파 (서열번호:1)를 미치료된 HPP가 있는 성인 또는 청소년으로부터의 혈장 샘플에서 PPI 또는 PLP 농도에 비교하여 HPP가 있는 성인 또는 청소년으로부터의 혈장 샘플에서 상승된 무기 파이로포스페이트 (PPI) 또는 피리독살 5'-포스페이트 (PLP) 농도를 나타내는 HPP가 있는 성인 (예를 들어, 약 18세 이상 연령의 HPP가 있는 성인, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 HPP가 있는 청소년 (예를 들어, 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)에 투여하는 방법이 기재된다. sALP의 투여 이전에, HPP 환자는 하기를 갖는 것을 특징으로 할 수 있다: 혈장 PPI 농도 최대 약  $6 \mu\text{M}$  및/또는 PLP 농도 최대  $1300 \text{ ng/ml}$ . 추가로, 다음과 같은 투여하는 방법: 아스포타제 알파 (서열번호:1)를 HPP가 있는 성인의 걷기 능력에서 개선을 초래하는 HPP가 있는 성인 (예를 들어, 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 HPP가 있는 청소년 (예를 들어, 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)에 투여하는 방법이 기재된다. 예를 들어, 아스포타제 알파 (서열번호:1)는 sALP의 투여 이전에, 환자가 걷기 거리가 다음과 같은 것을 특징으로 하는, 즉 6분 내의 약 350 미터 이하가 되는 줄어든 걷기 능력을 갖는 HPP가 있는 성인 또는 청소년에게 투여될 수 있다. 예를 들어, HPP가 있는 성인은 sALP의 투여 후 보조 이동 장치, 예컨대 유모차, 휠체어, 부목, 목발, 및 보조기구에 의한 기능회복에 대한 감소된 의존을 나타낸다.

[0080] 다음과 같은 투여하는 방법: 아스포타제 알파 (서열번호:1)를 신체적 손상을 나타내는 총 운동 능력의 Bruininks-Oseretsky 테스트 2nd 판 (BOT-2) 달리기 속도 및 민첩성 테스트 또는 체력 점수 (예를 들어, 다음의 하나 이상의 BOT-2 점수 영역에서 약 7 미만의 BOT-2 점수: 체력, 달리기 속도 및 민첩성, 소 근육 운동 정확성, 소 근육 운동 통합, 매뉴얼 기능력, 양손 협응, 밸런스, 및 상지 협응)을 갖는 HPP가 있는 성인 (예를 들어, 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 HPP가 있는 청소년 (예를 들어, 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)에 투여하는 방법이 또한 기재된다. 예를 들어, 아스포타제 알파 (서열번호:1)는 약 6 미만의 BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 점수를 갖는 HPP가 있는 성인에게 투여될 수 있다. 게다가, 아스포타제 알파 (서열번호:1)는 약 12 미만의 BOT-2 체력 점수를 갖는 HPP가 있는 성인에게 투여될 수 있다.

[0081] 다음과 같은 투여하는 방법: 아스포타제 알파 (서열번호:1)를 줄어든 파지 및 근육강도를 나타내는 휴대용 동적

측정 (HHD) 점수 (예를 들어, 약 50 미만, 예컨대 약 10, 20, 30, 40, 또는 50의 HHD 점수), 하지에서 줄어드는 기능적 장애를 나타내는 하지 기능적 척도 (LEFS) 점수 (예를 들어, 약 40 미만, 예컨대 약 10, 20, 30, 또는 40의 LEFS 점수), 및/또는 통증을 나타내는 간결한 통증 목록-단형 (BPI-SF) (예를 들어, 약 10 초과, 예컨대 약 10, 약 15, 약 20, 약 25, 또는 약 30 또는 그 초과점수)를 갖는 HPP가 있는 성인 (예를 들어, 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 HPP가 있는 청소년 (예를 들어, 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)에게 투여하는 방법이 또한 기재된다.

[0082] 임의의 이들 방법에서, 아스포타제 알파 (서열번호:1)는 연장된 기간 동안, 예를 들어, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 적어도 10년, 또는 10년보다 더 오래, 예컨대 환자의 수명 동안) HPP가 있는 성인 (예를 들어, 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 HPP가 있는 청소년에게 투여될 수 있다. 게다가, 하기를 사용하여 본 명세서에 기재된 주어진 결과: 아스포타제 알파, 다른 sALP (예컨대 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체: 1)는 HPP가 있는 성인 (예를 들어, 소아-개시 HPP가 있는 성인)을 치료하기 위해 연장된 기간 동안, 예를 들어, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 적어도 10년, 또는 10년보다 더 오래, 예컨대 환자의 수명 동안) 사용될 수 있다.

[0083] **치료 방법**

[0084] HPP가 있는 성인 (예를 들어, 약 18세 이상 연령의 HPP가 있는 성인, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 HPP가 있는 청소년 (예를 들어, 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)을 치료하는 방법이 본 명세서에 제공된다. HPP가 있는 성인 (예를 들어, 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 HPP가 있는 청소년 (예를 들어, 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)은 하기와 같이 투여함에 의해 치료될 수 있다: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어, sALP 융합 폴리펩타이드, 예컨대 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)를 다음의 연령의 범위에 걸쳐 투여, 예를 들어, 약 18 내지 약 20 세, 약 20 내지 약 25 세, 약 25 내지 약 30 세, 약 30 내지 약 35 세, 약 35 내지 약 40 세, 약 40 내지 약 45 세, 약 45 내지 약 50 세, 약 50 내지 약 55 세, 약 60 내지 약 65 세, 약 20 내지 약 30 세, 약 30 내지 약 40 세, 약 40 내지 약 50 세, 약 50 내지 약 60 세, 약 60 내지 약 70 세, 약 20 내지 약 65 세, 약 30 내지 약 65, 세, 또는 65 세 초과 연령.

[0085] 성인 (예를 들어, 약 18세 이상 연령의 HPP가 있는 성인, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 청소년 (예를 들어, 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)은 하기의 투여 이전에 HPP로 진단될 수 있다: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어, sALP 융합 폴리펩타이드, 예컨대 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파). HPP가 있는 성인 (예를 들어, 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 HPP가 있는 청소년 은, 예를 들어, 하기를 나타낼 수 있다: HPP가 없는 성인에 비하여 신체적 손상 및 손상된 걷기 능력.

[0086] 추가로, HPP가 있는 성인 (예를 들어, 약 18세 이상 연령의 HPP가 있는 성인, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 HPP가 있는 청소년 (예를 들어, 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)은 하기로 이전에 치료되지 않은 미접촉 환자일 수 있다: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어, sALP 융합 폴리펩타이드, 예컨대 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파). 본 방법은 sALP를 투여하는 것을 포함한다: (예컨대 TNALP, 예를 들어, sALP 융합 폴리펩타이드, 예컨대 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파) 하기에; HPP가 있는 성인 또는 HPP가 있는 청소년, 예컨대 sALP를 적어도 1년의 치료 기간 (예를 들어, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 적어도 10년, 또는 10년보다 더 오래, 예컨대 환자의 수명 동안)동안 투여하는 것.

[0087] 특히, sALP, 예컨대 아스포타제 알파,는 혈장 PPI 농도 최대 약 6  $\mu\text{M}$  (예를 들어, 약 3.5  $\mu\text{M}$ , 약 4  $\mu\text{M}$ , 약 4.5  $\mu\text{M}$ , 약 5  $\mu\text{M}$ , 또는 약 5.5  $\mu\text{M}$ ), 혈장 PLP 농도 최대 1300 ng/ml (예를 들어, 혈장 PLP 농도 약 200 ng/ml, 300 ng/ml, 400 ng/ml, 500 ng/ml, 600 ng/ml, 700 ng/ml, 800 ng/ml, 900 ng/ml, 1000 ng/ml, 1100 ng/ml, 1200 ng/ml, 또는 1300 ng/ml), 6분 내 걷기 거리 약 350 미터 이하 (예를 들어, 6분 내 걷기 거리 약 50미터, 75미터, 100미터, 125미터, 150미터, 175미터, 200미터, 225미터, 250미터, 275미터, 또는 350미터), 약 6.0 미만의 총 BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 점수, 약 12 미만의 총 BOT-2 체력 점수, 예상된 HHD 점수의 약 80% 미만의 HHD 점수 (예를 들어, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%,

또는 약 75%의 예상된 HHD 점수), 약 40 미만의 LEFS 점수 (예를 들어, 약 10, 약 20, 약 30, 또는 약 40 미만의 LEFS 점수), 및/또는 BPI-SF 점수로 약 12 미만 (예를 들어, BPI-SF 점수로 약 0 미만, 약 1, 약 2, 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 또는 약 10)가 있는 것으로 이전에 결정된 HPP가 있는 성인 (예를 들어, 약 18세 이상 연령의 HPP가 있는 성인, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 HPP가 있는 청소년 (예를 들어, 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)에게 치료 기간 동안 투여될 수 있다. 나아가, HPP가 있는 성인 또는 청소년의 혈장 PPi 농도, 혈장 PLP 농도, 6분 내 걷기 거리, BOT-2 체력 점수, BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 점수, HHD 점수, LEFS 점수, 및 BPI-SF 점수는 sALP로 치료에 따른 성인 또는 청소년에서 효과를 평가하기 위해 기준선에서 각각 혈장 PPi 농도, 혈장 PLP 농도, 6분 내 걷기 거리, BOT-2 체력 점수, BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 점수, HHD 점수, LEFS 점수, 및 BPI-SF 점수에 비교될 수 있다.

[0088] 추가로, HPP가 있는 성인 (예를 들어, HPP가 있는 성인 약 18세 이상 연령의, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 HPP가 있는 청소년 (예를 들어, an 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)의 혈장 PPi 농도, 혈장 PLP 농도, 6분 내 걷기 거리, BOT-2 체력 점수, BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 점수, HHD 점수, LEFS 점수, 및 BPI-SF 점수는 sALP (예를 들어, 아스포타제 알파)가 투여된 성인 또는 청소년에서 치료 효과를 결정하기 위해 건강한 환자의 혈장 PPi 농도, 혈장 PLP 농도, 6분 내 걷기 거리, BOT-2 체력 점수, BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 점수, HHD 점수, LEFS 점수, 및 BPI-SF 점수에 비교될 수 있다. 특히, sALP는 적어도 1년 (예를 들어, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 적어도 10년, 또는 10년보다 더 오래, 예컨대 환자의 수명 동안)의 치료 기간 동안 투여될 수 있다. 대안적으로, 본 방법은 sALP로 치료의 성인 또는 청소년에서의 효과를 평가하기 위해 본 명세서에서 기재된 바와 같이 sALP, 예컨대 아스포타제 알파를 투여하기 이전의 혈장 PPi 농도, 혈장 PLP 농도, 6분 내 걷기 거리, BOT-2 체력 점수, BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 점수, HHD 점수, LEFS 점수, 및 BPI-SF 점수를 결정하는 것을 포함할 수 있다.

[0089] 추가로, 각각의 기재된 매트릭스 (예를 들어, 혈장 PPi 농도, 혈장 PLP 농도, 6분 내 걷기 거리, BOT-2 체력 점수, BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 점수, HHD 점수, LEFS 점수, 및 BPI-SF 점수)는 다음을 사용한 하기에서의 치료 효능을 평가하기 위해 단독으로 또는 임의의 조합으로 사용될 수 있다: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)로 HPP가 있는 성인 (예를 들어, 약 18세 이상 연령의 HPP가 있는 성인, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 HPP가 있는 청소년 (예를 들어, 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)에서 되고, 여기서 시험된 매트릭스의 특정 값 또는 점수에 비하여 개선은 sALP를 사용한 HPP 환자에서의 치료 효과를 나타내기 위해 사용될 수 있다.

[0090] 성인 및 청소년에서 저포스포타제증

[0091] 성인 HPP가 있는 환자 (예를 들어, 약 18세 이상 연령의 HPP가 있는 성인, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 청소년 HPP (예를 들어, 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)은 하기로 치료될 수 있다: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)로 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주)의 치료 기간 동안. 특히, 아스포타제 알파 (STRENSIQ®)는 성인 환자 (예를 들어, 미접촉 환자)에서 소아-개시 HPP를 치료하기 위해 본 명세서에서 기재된 바와 같이 투여될 수 있다. 따라서, 본 방법은, 특히 다음의 경우 본 명세서에 기재된 HPP의 임의의 증상 중 하나 이상, 또는 모두를 경감하는데 유용하다: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)가 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년)의 치료 기간 동안 투여된 경우. 특히, 치료 기간은 적어도 6주이다.

[0092] 예를 들어, 본 방법은, 비제한적으로, 포스포에탄올아민 (PEA)의 상승된 혈액 및/또는 소변 수준, 아무기화, 과칼슘뇨증, 골격 기형, 어기적어기적 보행, 뼈 통증, 골절(예를 들어, 척추 분쇄 골절, 전자하 골절, 또는 중족골 골절), 칼슘 파이로포스페이트 이수화물 결정 침착, 관절염, 파이로포스페이트 관절병증, 연골석회화증, 석회성 관절주위염, 및 가성골절을 포함한 성인 HPP의 증상을 치료하는데 유용하다. 본 방법은 또한, 비제한적으로

로, PPI, PEA, 또는 PLP의 상승된 혈액 또는 소변 수준, 골연화증, 하나 이상의 골격 기형, 긴장저하, 근육 약화, 류마티스성 합병증, 관절염, 가성통풍, 어기적어기적 보행, 보행의 어려움, 뼈 통증, 통증, 미성숙한 치아의 손실, 아무기화, 폐형성 저하증, 호흡결핍, 발작, 과칼슘뇨증, 단간, 및 성장 지연을 포함한 청소년 HPP의 증상을 치료하는데 유용하다.

[0093] 하기를 사용할 필요성 또는 이를 사용한 치료의 효능을 평가하는데 유용한 예시적인 매트릭스: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)로 (1) 혈장 PPI 및/또는 PLP 농도, (2) 6분 걷기 테스트 (6MWT), (3) 운동 능력의 Bruininks-Oseretsky 테스트 2<sup>nd</sup> 판 (BOT-2), (4) 휴대용 동적측정 (HHD), (5) 하지 기능적 척도 (LEFS), 및 (6) 간결한 통증 목록-단형 (BPI-SF)을 포함하고, 이것은 하기에 더욱 상세하게 기재된다.

[0094] 혈장 무기 파이로포스페이트 (PPI) 및 피리독살 5' -포스페이트 (PLP) 농도

[0095] HPP가 있는 환자 (예를 들어, 약 18세 이상 연령의 HPP가 있는 성인, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)는 다음으로 치료에 대해 확인될 수 있다: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파) 환자로부터의 샘플, 예컨대 혈장 또는 소변샘플에서 PPI 및/또는 PLP 농도를 결정함에 의해 확인. 당해 분야의 숙련가에게 알려진 임의의 방법, 하기에 상세히 기재된 바와 같이 혈장 샘플 또는 대안적으로 소변 샘플에서 PPI 및 PLP 농도를 정량하기 위해 사용될 수 있다: Whyte 등, 1995 (*J. Clin. Invest.* 95(4): 1440-1445), 이것은 이로써 전체적으로 참고로 편입된다. 혈장 또는 소변 샘플에서 PPI 농도를 정량하기 위해 방법은 또한 하기에 기재되어 있다: Cheung 등, 1977 (*Anal. Biochem.* 83:61-63), Cook 등, 1978 (*Anal. Biochem.* 91:557-565), 및 Johnson 등, 1968 (*Anal. Biochem.* 26:137-145), 이들 각각은 이로써 전체적으로 참고로 편입된다. 특히, 혈장 샘플에서 PPI 및 PLP 농도는 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)에 대한 ALP 활성을 평가하기 위해 사용될 수 있다.

[0096] 건강한 대상체 (예를 들어, 대략 동일한 연령, 같은 성별, 및/또는 동일한 키의 건강한 대상체)에 비교하여, HPP 환자는 전형적으로 하기를 나타낸다: PPI 및 PLP의 상승된 혈장 농도, 예컨대 PPI 농도 최대 약 6  $\mu\text{M}$  (예를 들어, 약 3.5  $\mu\text{M}$ , 약 4  $\mu\text{M}$ , 약 4.5  $\mu\text{M}$ , 약 5  $\mu\text{M}$ , 또는 약 5.5  $\mu\text{M}$ ) 및/또는 PLP 농도 최대 약 1300 ng/ml (예를 들어, 혈장 PLP 농도로 약 200 ng/ml, 300 ng/ml, 400 ng/ml, 500 ng/ml, 600 ng/ml, 700 ng/ml, 800 ng/ml, 900 ng/ml, 1000 ng/ml, 1100 ng/ml, 1200 ng/ml, 또는 1300 ng/ml). 건강한 성인의 혈장 PPI 농도에 대한 보다 낮은 정상 한계는 약 1  $\mu\text{M}$ 인 반면, 보다 높은 정상 한계는 약 5.9  $\mu\text{M}$ 이다. 건강한 성인에 대한 혈장 PLP 농도의 보다 낮은 정상 한계는 약 10 ng/ml 미만인 반면, 보다 높은 정상 한계는 약 60 ng/ml이다. 건강한 청소년의 혈장 PPI 농도에 대한 보다 낮은 정상 한계는 약 0.75  $\mu\text{M}$  미만인 반면, 보다 높은 정상 한계는 약 4.78  $\mu\text{M}$ 이다. 건강한 청소년의 혈장 PLP 농도에 대한 보다 낮은 정상 한계는 약 5.74 ng/ml 미만인 반면, 보다 높은 정상 한계는 약 61.15 ng/ml이다.

[0097] 상승된 혈장 농도의 PPI 및/또는 PLP가 있는 HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)은 하기로 치료될 수 있다: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파), 예컨대 sALP를 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주)의 치료 기간 동안 투여함에 의한. 예를 들어, PPI 농도 최대 약 6  $\mu\text{M}$ 이 있는 HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)는 치료 기간 동안 sALP로 치료될 수 있다. 마찬가지로, PLP 농도 최대 약 1300 ng/ml이 있는 HPP 환자는 치료 기간 동안 sALP로 치료될 수 있다.

[0098] 본 방법은 환자로부터의 샘플 (예를 들어, 혈장 샘플)에서 PPI 및/또는 PLP 농도에서 통계적으로 상당한 감소를 초래한다. 예를 들어, sALP로의 치료는 미치료된 HPP 환자 (예를 들어, 약 18세 이상 연령의 소아-개시 HPP 대상체)로부터의 샘플 (예를 들어, 혈장 샘플)에서의 PPI 농도에 비하여 약 1  $\mu\text{M}$ , 약 1.5  $\mu\text{M}$ , 약 2  $\mu\text{M}$ , 약 2.5  $\mu\text{M}$ , 또는 약 3  $\mu\text{M}$  또는 25% 또는 그 초과 (예를 들어, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 또는 60% 초과)

의 환자로부터의 샘플 (예를 들어, 혈장 샘플)에서 PPi 농도의 감소를 초래한다. 따라서, 환자는 sALP의 투여 후 예를 들어, 약 2  $\mu\text{M}$  내지 약 5  $\mu\text{M}$ , 약 3  $\mu\text{M}$  내지 약 5  $\mu\text{M}$ , 약 2  $\mu\text{M}$  내지 약 4  $\mu\text{M}$ , 또는 약 2  $\mu\text{M}$  내지 약 3  $\mu\text{M}$ 의 혈장 PPi 농도를 나타낸다.

- [0099] 마찬가지로, sALP로의 치료는 미치료된 HPP 환자 (예를 들어, 약 18세 이상 연령의 소아-개시 HPP 대상체)로부터의 샘플 (예를 들어, 혈장 샘플)에서의 PLP 농도에 비하여 약 100 ng/ml, 125 ng/ml, 150 ng/ml, 175 ng/ml, 200 ng/ml, 225 ng/ml, 또는 250 ng/ml 또는 50% 또는 그 초과 (예를 들어, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 95% 초과)의 환자로부터의 샘플 (예를 들어, 혈장 샘플)에서 PLP 농도에서의 감소를 초래한다. 따라서, 환자는 sALP의 투여 후, 예를 들어, 약 2 ng/ml 내지 약 150 ng/ml, 약 4 ng/ml 내지 약 100 ng/ml, 약 10 ng/ml 내지 약 75 ng/ml, 또는 약 1 ng/ml 내지 약 50 ng/ml의 혈장 PLP 농도를 나타낸다.
- [0100] HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)의 혈장 PPi 및/또는 PLP 농도에서의 감소는 sALP의 투여 전반에 걸쳐 지속될 수 있다. 예를 들어, 혈장 PPi 농도는 약 25% 감소하고 sALP로 치료 동안 줄어든 혈장 PPi 농도의  $\pm 10\%$ 로 유지하고 및/또는 혈장 PLP 농도는 약 50% 감소하고 sALP로 치료 동안 줄어든 혈장 PLP 농도의  $\pm 10\%$ 로 유지한다
- [0101] 대안적으로, sALP의 투여가 HPP 환자(예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)로부터의 혈장 샘플에서 PPi 농도가 약 25% 또는 그 초과로의 감소를 초래하지 않는 경우, sALP 투여의 투약량 및/또는 빈도는 다음에 대한 sALP의 유효량을 결정하기 위해 변화될 수 있다: HPP 환자(예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인). 마찬가지로, sALP의 투여가 약 50% 또는 그 초과로 환자로부터의 혈장 샘플에서의 PLP 농도에서의 감소를 초래하지 않는 경우, sALP 투여의 투약량 및/또는 빈도는 다음에 대한 sALP의 유효량을 결정하기 위해 변화될 수 있다: HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년). 예를 들어, sALP의 투약량은 다음과 같이 증가될 수 있다: 예를 들어, 약 2.1 mg/kg/주 또는 약 3.5 mg/kg/주부터 약 6 mg/kg/주 또는 약 9 mg/kg/주.
- [0102] *6분 걷기 테스트 (6MWT)*
- [0103] HPP가 있는 성인 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)은 다음 방법으로 괄호 안의 sALP로의 치료에 대해 확인될 수 있다: (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파) 6MWT를 사용하는 방법. 특히, 6MWT는 하기에서 걷기 능력을 평가하기 위해 사용될 수 있다: HPP가 있는 성인 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 HPP가 있는 청소년 (예를 들어, an 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년) 에 대해 성인 또는 청소년에 대한 6MWT 값을 생성하도록 함.
- [0104] 6MWT는 단단한 표면을 갖는 평평한, 직선, 밀폐된 복도 (예를 들어, 길이 약 30미터)를 사용하여 실내 또는 야외에서 수행될 수 있다. 스톱워치 또는 다른 타이머를 사용하여 시간을 추적할 수 있고 기계적 계수기 또는 다른 장치를 사용하여 HPP 환자 (예를 들어, 약 18세 이상 연령의 HPP가 있는 성인, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 HPP가 있는 청소년 (예를 들어, 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)가 걸은 거리 (예를 들어, 미터 단위)를 결정할 수 있다. 예를 들어, 복도의 길이는 3미터 마다 마킹되어 HPP 환자가 걸은 미터의 수를 확인할 수 있으며, 전환지점은 30미터이고 출발 선 또한 마킹된다. 6분 내 환자가 걸은 거리는 그 다음, 예를 들어, 대략 동일한 연령, 동일한 성별 및/또는 동일한 키의 미치료된 대상체에 의해 걸은 예상된 미터 수와 비교될 수 있고, 백분율 값으로 표현되어 환자의 6MWT 값을 생성한다. 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)의 6MWT 값은 환자의 기준선에서의 6MWT 값과 비교될 수 있다. 추가로, HPP가 있는 성인 또는 청소년의 6MWT 값은 건강한 환자의 6MWT 값에 비교될 수 있다.
- [0105] 예상된 6MWT 값의 약 80% 미만의 6MWT를 갖는 HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)는 하기로 치료될 수 있다: sALP(예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파), 예컨대 sALP를 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월

월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주)의 치료 기간 동안 투여함에 의함. 예를 들어, 예상된 6MWT 값의 약 80% 미만 (예를 들어, 예상된 6MWT 값의 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 또는 약 75%)의 6MWT를 갖는 HPP 환자는 다음 sALP로 치료될 수 있다: (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)로 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주)의 치료 기간 동안.

[0106] 본 방법은 다음 환자의 6MWT 값에서의 개선을 초래할 수 있다: HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년). 예를 들어, 하기로의 치료: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파), 예컨대 sALP로의 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주)의 치료 기간 동안 치료는 환자의 예상된 6MWT 값의 약 80% 또는 그 초과 (예를 들어 예측의 6MWT 값의 약 82%, 약 84%, 약 86%, 약 88%, 약 90%, 약 92%, 약 94%, 약 96%, 약 98%, 또는 그 초과)로 6MWT 값에서의 증가를 초래할 수 있다.

[0107] HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)의 6MWT 값에서의 증가는 다음의 전반에 걸쳐 지속될 수 있다: sALP의 투여 (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파), 예를 들어, 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주)의 치료 기간 동안. 예를 들어, 6MWT 값은 환자의 예상된 6MWT 값의 약 80% 초과로 증가하고 sALP (예를 들어, 아스포타제 알파)로의 치료 동안 증가된 6MWT 값의 ± 10%에서 유지한다.

[0108] 마찬가지로, HPP 환자(예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 an 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)의 걷기 능력에서의 개선은 sALP의 투여 전반에 걸쳐, 예를 들어, 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주)의 치료 기간 동안 지속될 수 있다. 예를 들어, HPP 환자는 sALP로 치료 동안 보조 이동 장치, 예컨대보행기, 휠체어, 부목, 목발, 또는 보조기구에 의한 기능회복에 대한 감소된 의존을 나타낸다.

[0109] 대안적으로, sALP의 투여가 (예를 들어, 대략 동일한 연령, 같은 성별, 및/또는 키의 미치료된 HPP가 있는 대상체의) 예상된 6MWT 값의 80% 초과로 6MWT 값에서의 증가를 초래하지 않는 경우, sALP 투여의 투약량 및/또는 빈도는 다음 환자에 대한 sALP의 유효량을 결정하기 위해 변화될 수 있다: HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년). 예를 들어, 다음 sALP의 투약량 (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)은 다음과 같이 증가될 수 있다; 예를 들어, 약 2.1 mg/kg/주 또는 약 3.5 mg/kg/주로부터 약 6 mg/kg/주 또는 약 9 mg/kg/주.

[0110] 운동 능력의 Bruininks-Oseretsky 테스트 2<sup>nd</sup> 판 (BOT-2)

[0111] HPP가 있는 성인 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또

는 HPP가 있는 청소년 (예를 들어, 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)은 다음으로의 치료에 대해 확인될 수 있다: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)로 BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 및 BOT-2 체력 시험을 사용함. 특히, BOT-2 속도 및 민첩성 및 BOT-2 체력 시험은 HPP가 있는 성인에서 신체적 손상 및 이동성 제한을 평가하기 위해 사용될 수 있어 성인에 대한 다음 점수를 생성한다: 총 BOT-2 속도 및 민첩성 점수 및/또는 총 BOT-2 체력 점수.

[0112] BOT-2는 하기 환자의 신체적 손상을 평가하기 위한 테스트의 범위를 포함하고: HPP가 있는 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년), 이것은, 예를 들어, 테스트를 포함한 키트로 수행될 수 있다. BOT-2는 하기 영역에서 복합 BOT-2 점수를 제공한다: 체력, 달리기 속도 및 민첩성, 소 근육 운동 정확성, 소 근육 운동 통합, 매뉴얼 능력, 양손 협응, 밸런스, 및 상지 협응. 예를 들어, HPP가 있는 성인 또는 청소년은 하기를 수행할 수 있고: 섯-업, v-업, 제자리 멀리뛰기, 윗짓, 및/또는 푸시-업, 다음을 결정하고: BOT-2 체력 점수; HPP가 있는 성인 또는 청소년은 평균대 위 걷기를 할 수 있고 및/또는 셔틀 런, 2-레그 사이드 홉 또는 원-레그 사이드 홉을 수행하여 BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 점수를 결정할 수 있고; HPP가 있는 성인 또는 청소년은 하기를 결정하기 위해 원을 잘라내고 및/또는 점을 연결할 수 있고: BOT-2 소 근육 운동 정확성 점수; HPP가 있는 성인 또는 청소년은 하기를 결정하기 위해 별을 카피하고 및/또는 정사각형을 카피할 수 있고: BOT-2 소 근육 운동 통합 점수; HPP가 있는 성인 또는 청소년은 매뉴얼 능력 점수를 결정하기 위해 페니, 카드 분류 및/또는 끈 블록을 전송할 수 있고; HPP가 있는 성인 또는 청소년은 하기를 결정하기 위해 그의 발 및 손가락을 두드리고 및/또는 점프 짝을 수행할 수 있고: BOT-2 양손 협응 점수; HPP가 있는 성인 또는 청소년은 하기를 결정하기 위해 라인 상을 전방으로 걷고 및/또는 평균대 상에서 한발로 서 있을 수 있고: BOT-2 균형 점수; 그리고 HPP가 있는 성인 또는 청소년은 BOT-2 상지 협응 점수를 결정하기 위해 볼을 표적으로 던지고 및/또는 토스된 볼을 잡을 수 있다. BOT-2 점수는 각각의 평가된 영역의 부가적 총점이다. 나아가, 환자의 신체적 수행성을 평가하기 위해 사용된 BOT-2 점수는 미가공 부가적 점수 또는 표준 점수일 수 있다.

[0113] HPP가 있는 성인 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인), 또는 HPP가 있는 청소년 (예를 들어, 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)은 기재된 영역 (체력, 달리기 속도 및 민첩성, 소 근육 운동 정확성, 소 근육 운동 통합, 매뉴얼 능력, 양손 협응, 밸런스, 및 상지 협응) 중 하나 이상에서 시험을 수행하여 성인 또는 청소년에서 신체적 손상의 지표인 BOT-2 점수를 생성할 수 있다. 각각의 BOT-2 영역 (체력, 달리기 속도 및 민첩성, 소 근육 운동 정확성, 소 근육 운동 통합, 매뉴얼 능력, 양손 협응, 밸런스, 및 상지 협응) 내에서, HPP가 있는 성인 또는 청소년은 성인 또는 청소년의 BOT-2 점수를 결정하기 위해 하나 이상의 시험을 수행할 수 있고, 예를 들어, 성인 또는 청소년은 BOT-2 체력 점수를 결정하기 위해 섯-업, v-업, 제자리 멀리뛰기, 윗짓, 및 푸시-업 중 하나 이상을 수행할 수 있다. 요망하는 경우, 단지 단일 테스트 (예를 들어, 섯-업, v-업, 제자리 멀리뛰기, 윗짓, 및 푸시-업의 군으로부터 선택된 1 테스트)가 HPP가 있는 성인 또는 청소년의 BOT-2 점수 (예를 들어, BOT-2 체력 점수)를 결정하기 위해 수행될 수 있다.

[0114] 각각의 BOT-2 점수 (체력, 달리기 속도 및 민첩성, 소 근육 운동 정확성, 소 근육 운동 통합, 매뉴얼 능력, 양손 협응, 밸런스, 및 상지 협응)로 HPP가 있는 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)에 대한 점수가 괄호 안의 HPP가 없는 환자의 BOT-2 점수에 비교될 수 있어 (예를 들어, 성인으로 HPP 없는 약 18세 이상 연령 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년), 예를 들어, BOT-2 점수의 표준 편차를 결정한다. 각각의 HPP가 있는 환자의 BOT-2 점수 (예를 들어, 체력, 달리기 속도 및 민첩성, 소 근육 운동 정확성, 소 근육 운동 통합, 매뉴얼 능력, 양손 협응, 밸런스, 및 상지 협응)는 다른 HPP 환자의 BOT-2 점수에 비교될 수 있어 (예를 들어, 대략 동일한 연령, 키, 및/또는 성별의 HPP 환자), 예를 들어, HPP 환자에 대한 BOT-2 점수를 결정한다.

[0115] BOT-2 점수 (예를 들어, 체력, 달리기 속도 및 민첩성, 소 근육 운동 정확성, 소 근육 운동 통합, 매뉴얼 능력, 양손 협응, 밸런스, 및 상지 협응 점수)는 약 0이거나 또는 약 25 미만의 범위로, 여기서 약 10 초과 점수가 건강한 대상체 (예를 들어, HPP 없는 환자)의 대표적인 것으로 간주된다. 약 10 미만의 BOT-2 점수 (예를 들어, 체력, 달리기 속도 및 민첩성, 소 근육 운동 정확성, 소 근육 운동 통합, 매뉴얼 능력, 양손 협응, 밸런스, 및 상지 협응 점수)를 갖는 환자는 다음으로 치료될 수 있다: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파), 예컨대 sALP를 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개

월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주)의 치료 기간 동안 투여함에 의함.

[0116] 예를 들어, HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)로 10 미만 (예를 들어, 약 0, 약 1, 약 2, 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 또는 약 10)의 BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 점수를 갖는 환자는 하기로 치료될 수 있다: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)로 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주)의 치료 기간 동안. 유사하게, HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)로 12 미만 (예를 들어, 약 0, 약 1, 약 2, 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 또는 약 14)의 BOT-2 체력 점수를 갖는 환자는 그 다음 하기로 치료될 수 있다: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)로 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주)의 치료 기간 동안.

[0117] 본 방법은 BOT-2 점수(예를 들어, 체력, 달리기 속도 및 민첩성, 소 근육 운동 정확성, 소 근육 운동 통합, 매뉴얼 능력, 양손 협응, 밸런스, 및/또는 상지 협응 점수)로 HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)의 점수에서의 개선을 초래한다. 예를 들어, 하기로의 치료: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파), 예컨대 sALP로 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주)의 치료 기간 동안의 치료는 약 10 내지 약 20 또는 그 초과 (예를 들어 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19, 약 20, 약 21, 약 22, 약 23, 약 24, 또는 약 25)로 BOT-2 체력 점수에서의 증가를 초래할 수 있다. 추가로, 하기로의 치료: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파), 예컨대 sALP로 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주)의 치료 기간 동안의 치료는 약 9 내지 약 20 또는 그 초과 (예를 들어 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19, 약 20, 약 21, 약 22, 약 23, 약 24, 또는 약 25)로 BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 점수에서의 증가를 초래할 수 있다.

[0118] BOT-2 점수 (예를 들어, 체력, 달리기 속도 및 민첩성, 소 근육 운동 정확성, 소 근육 운동 통합, 매뉴얼 능력, 양손 협응, 밸런스, 및/또는 상지 협응 점수)에서의 증가는 하기 전반을 통하여 지속될 수 있다: sALP의 투여 (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파), 예를 들어, 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주)의 치료 기간 동안. 마찬가지로, 신체적 손상에서의 감소는 하기 전반을 통하여 지속될 수 있다: sALP의 투여 (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩

타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파), 예를 들어, 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주)의 치료 기간 동안.

[0119] HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)의 BOT-2 점수 (체력, 달리기 속도 및 민첩성, 소 근육 운동 정확성, 소 근육 운동 통합, 매뉴얼 능력, 양손 협응, 밸런스, 및 상지 협응점수)는 하기를 사용한 치료 효능을 평가하기 위해 단독으로 또는 조합하여 사용될 수 있다: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파), 여기서 특정 테스트 점수에 관한 개선은 sALP가 HPP와 연관된 신체적 손상을 치료하는데 효과적이라는 것을 입증한다. 예를 들어, sALP의 투여가 HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)에 대해 되고 약 9 또는 그 초과로 BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 점수에서의 증가를 초래하는 경우, 여기서 환자가 이전에 하기를 가졌으면, 즉 BOT-2 달리기 속도 및 민첩성점수로 약 7 미만이면, sALP는, 예를 들어, HPP와 연관된 신체적 손상을 치료하는데 효과적인 것으로 간주된다. 대안적으로, BOT-2 달리기 속도 및 민첩성에 대한 적어도 2점 또는 그 초과 (예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 점) 점수의 증가 점수로 치료 이전 점수에 비한 상기 증가는 효능을 나타낸다 (예를 들어, 치료의 1년 초과 동안 지속된 높은 점수와 커플링된 경우).

[0120] 추가로, 각각의 BOT-2 영역 (체력, 달리기 속도 및 민첩성, 소 근육 운동 정확성, 소 근육 운동 통합, 매뉴얼 능력, 양손 협응, 밸런스, 및 상지 협응) 내에서, HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)는 환자의 BOT-2 점수를 결정하기 위해 하나 이상의 테스트를 수행할 수 있다. 예를 들어, HPP가 있는 성인 또는 청소년은 BOT-2 체력 점수를 결정하고 sALP 투여의 치료 효능을 평가하기 위해 싯-업, v-업, 제자리 멀리뛰기, 윗싯, 및 푸시-업 중 하나 이상을 수행할 수 있다. HPP가 있는 성인 또는 청소년은 BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 점수를 결정하고 sALP 투여의 치료 효능을 평가하기 위해 평균대, 서틀 런, 2-레그 사이드 홉 및/또는 원-레그 사이드 홉 중 하나 이상을 수행할 수 있다. HPP가 있는 성인 또는 청소년은 BOT-2 소 근육 운동 정확성 점수를 결정하고 sALP 투여의 치료 효능을 평가하기 위해 원을 잘라내고 밋/또는 점을 연결할 수 있다. HPP가 있는 성인 또는 청소년은 BOT-2 소 근육 운동 통합 점수를 결정하고 sALP 투여의 치료 효능을 평가하기 위해 별을 카피하고 밋/또는 정사각형을 카피할 수 있다. HPP가 있는 성인 또는 청소년은 BOT-2 매뉴얼 능력 점수를 결정하기 위해 페니, 카드 분류, 및 끈 블록을 이송시키는 하나 이상을 수행할 수 있고 sALP 투여의 치료 효능을 평가할 수 있다. HPP가 있는 성인 또는 청소년은 하기를 결정하기 위해 그의 발 및 손가락을 두드리고 밋/또는 점프 잭을 수행할 수 있고: BOT-2양손 협응 점수 그리고 sALP 투여의 치료 효능을 평가한다. HPP가 있는 성인 또는 청소년은 하기를 결정하기 위해 라인 상을 전방으로 걷고 밋/또는 평균대 상에서 한발로 서 있을 수 있고: BOT-2 밸런스 점수 그리고 sALP 투여의 치료 효능을 평가한다. HPP가 있는 성인 또는 청소년은 BOT-2 상지 협응 점수를 결정하기 위해 볼을 표적으로 던지고 밋/또는 토스된 볼을 잡을 수 있고 그리고 sALP 투여의 치료 효능을 평가한다.

[0121] 대안적으로, sALP의 투여가 약 9 초과로 BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 점수에서의 증가를 초래하지 않는 경우 (예를 들어, 적어도 2 내지 10 점의 증가 (예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 점)로, BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 점수가 sALP로 치료 이전의 점수에 비함), sALP 투여의 투약량 및/또는 빈도는 다음 환자에 대한 sALP의 유효량을 결정하기 위해 변화될 수 있다: HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년). 예를 들어, 하기의 투약량: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)는 다음과 같이 증가될 수 있다; 예를 들어, 약 2.1 mg/kg/주 또는 약 3.5 mg/kg/주로부터 약 6 mg/kg/주 또는 약 9 mg/kg/주.

[0122] 휴대용 동적측정 (HHD)

[0123] HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)의 파지 및 근육강도는 포켓용 동적측정 (HHD)을 사용하여 평가될 수 있다. 예를 들어, HPP 환자의 무릎 구부리기 및 연장 및 또한 고관절 구부리기, 연장, 및 외전은, 예를 들어,

MICROFET2™ 동적측정기를 사용하여 측정될 수 있고, 반면에 HPP 환자의 악력은, 예를 들어, JAMAR® 파지 동적 측정기를 사용하여 측정될 수 있다. 특히, 관리자는 동적측정기를 정지되게 유지하고, 환자는 상기 동적측정기에 대해 최대 힘을 발휘한다. 피크 힘 데이터는 파운드로 수집되고, 그 다음 뉴턴 (N)으로 전환된다. 토크 값은 그런 다음 N-미터로 팔다리 길이를 사용하여 계산된다. 토크 값은 그 다음, 예를 들어, 대략 동일한 연령, 동일한 성별, 및/또는 동일한 키의 정상 대상체의 토크 값에 비교될 수 있고, 대상체의 HHD 점수를 생성하도록 백분율 값으로 표현된다.

[0124] 예상된 HHD 점수 (예를 들어, 대략 동일한 연령, 동일한 성별, 및/또는 동일한 키의 정상 대상체에 비함)의 약 80% 미만의 HHD 점수를 갖는 HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)는 하기로 치료될 수 있다: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파), 예를 들어, 예상된 HHD 점수의 약 80% 미만의 HHD가 있는 HPP 환자는 sALP로 다음 기간 동안 치료될 수 있다: 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주)의 치료 기간 동안.

[0125] 본 방법은 다음 환자의 HHD 점수에서 개선을 초래할 수 있다: HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년). 예를 들어, 하기로의 치료: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드: 1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파), 예컨대 sALP로 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주)의 치료 기간 동안의 치료는 환자의 예상된 HHD 점수의 약 5% 또는 그 초과 (예를 들어, 약 5%, 약 10%, 약 15%, 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 또는 약 50%의 증가)로 HHD 점수에서의 증가를 초래할 수 있다.

[0126] HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)의 HHD 점수에서의 증가는 하기 기간 전반에 걸쳐 지속될 수 있다: sALP의 투여 (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)로, 예를 들어, 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 다음 환자의 수명: HPP 환자; 특히 적어도 6주)의 치료 기간 동안. 예를 들어, HHD 점수는 예상된 HHD 점수의 약 5% 또는 그 초과로 증가하고 sALP로 치료 동안 증가된 HHD 점수의 ± 10%에서 유지한다. 대안적으로, sALP의 투여가 예상된 HHD 점수 (예를 들어, 대략 동일한 연령, 같은 성별, 및/또는 키의 HPP 환자)의 약 5% 또는 그 초과로 HHD 점수에서의 증가를 초래하지 않는 경우, sALP의 투여의 투약량 및/또는 빈도는 HPP 환자에 대해 sALP의 유효량을 결정하기 위해 변화될 수 있다. 예를 들어, sALP의 투약량은 다음과 같이 증가될 수 있다; 예를 들어, 약 2.1 mg/kg/주 또는 약 3.5 mg/kg/주로부터 약 6 mg/kg/주 또는 약 9 mg/kg/주.

[0127] *하지 기능적 척도 (LEFS)*

[0128] HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)의 하지에서 줄어든 기능적 장애는 하지 기능 척도 (LEFS)를 사용하여 평가될 수 있다. LEFS는 경시적으로 환자를 모니터링하고 아스포타제 알파 치료의 유효성을 평가하는 능력을 포함하여, HPP 환자의 하나 또는 둘 모두 하지의 기능적 손상을 평가하기 위해 사용될 수 있다. 허가받은 물리적 치료사는 인터뷰 형식으로 HPP 환자 (예를 들어, 약 13세 이상 연령의 HPP 환자)에 대해 LEFS를 관리할 수 있다.

[0129] 약 40 미만의 LEFS 점수 (예를 들어, 약 10, 약 15, 약 20, 약 25, 약 30, 약 35, 또는 약 40의 LEFS 점수)를 갖는 HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는

약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)는 다음으로 치료될 수 있다: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파). 예를 들어, 약 40 미만의 LEFS 점수 (예를 들어, 약 10, 약 15, 약 20, 약 25, 약 30, 약 35, 또는 약 40의 LEFS 점수)를 갖는 HPP 환자는 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주)의 치료 기간 동안 sALP로 치료될 수 있다.

[0130] 본 방법은 다음 환자의 LEFS 점수에서의 개선을 초래할 수 있다: HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년). 예를 들어, 하기로의 치료: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파), 예컨대 sALP로 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주)의 치료 기간 동안 치료는 약 3 또는 그 초과 (예를 들어, 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 또는 약 10)로 LEFS 점수에서의 증가를 초래할 수 있다.

[0131] HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)의 LEFS 점수에서의 증가는 하기 전반을 통해 지속될 수 있다: sALP의 투여 (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)로, 예를 들어, 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 다음 환자의 수명: HPP 환자; 특히 적어도 6주)의 치료 기간 동안. 예를 들어, LEFS 점수는 약 3 또는 그 초과 (예를 들어, 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 또는 약 10)로 증가할 수 있고 sALP로 치료 동안 증가된 LEFS 점수의  $\pm 10\%$ 로 유지한다. 대안적으로, sALP의 투여가 약 3 또는 그 초과 (예를 들어, 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 또는 약 10)로 LEFS 점수에서의 증가를 초래하지 않는 경우, sALP의 투약량 및/또는 빈도는 HPP 환자에 대한 sALP의 유효량을 결정하기 위해 변화될 수 있다. 예를 들어, sALP의 투약량은 다음과 같이 증가될 수 있다; 예를 들어, 약 2.1 mg/kg/주 또는 약 3.5 mg/kg/주로부터 약 6 mg/kg/주 또는 약 9 mg/kg/주.

[0132] *간결한 통증 목록-단형 (BPI-SF)*

[0133] HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)의 통증은 간결한 통증 목록-단형 (BPI-SF)을 사용하여 평가될 수 있다. BPI-SF는 통증의 중증도 및 매일 기능에 대한 통증의 영향을 평가하기 위해 설계된 설문지이다. BPI-SF는 설문지 투여 24시간 이내에 통증 중증도 (4 항목) 및 통증 간섭 (7 항목)을 평가하기 위해 수치적 평가 척도를 이용하는 11 항목으로 구성된다. BPI-SF 설문지는 통증의 강도 및 통증이 HPP 환자 (예를 들어, 약 13세 이상 연령의 HPP 환자)의 매일 기능을 방해하는 정도를 0 (통증 없음) 내지 10 (중증 통증 또는 통증에 의해 야기된 상당한 간섭)의 수치적 평가 척도에 대한 정보를 제공하고; 보다 낮은 점수는 더 나은 삶의 질 결과 및 감소된 통증을 나타낸다. 예를 들어, HPP 청소년 및 성인의 BPI-SF 점수는 11가지 통증 평가의 복잡이다.

[0134] 약 10 초과의 BPI-SF 점수 (예를 들어, 약 10, 약 15, 약 20, 약 25, 또는 약 30 또는 그 초과의 BPI-SF 점수)를 갖는 HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)은 하기로 치료될 수 있다: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파). 예를 들어, 약 10 초과의 BPI-SF 점수 (예를 들어, 약 10, 약 15, 약 20, 약 25, 또는 약 30 또는 그 초과의 BPI-SF 점수)를 갖는 HPP 환자는 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2

년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주)의 치료 기간 동안 sALP로 치료될 수 있다.

[0135] 본 방법은 다음 환자에서 BPI-SF 점수에서의 개선을 초래할 수 있다: HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인)로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년). 예를 들어, 하기로의 치료: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파), 예컨대 sALP로 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 환자의 수명; 특히 적어도 6주)의 치료 기간 동안의 치료는 약 -2 또는 그 초과 (예를 들어, 약 -2, 약 -3, 약 -4, 약 -5, 약 -6, 또는 약 -7 또는 그 초과)로 BPI-SF 점수에서의 감소를 초래할 수 있다.

[0136] HPP 환자 (예를 들어, HPP가 있는 성인)로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)의 BPI-SF 점수에서의 감소는 다음 기간 전반에 걸쳐 지속될 수 있다: sALP의 투여 (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)로, 예를 들어, 적어도 2주 (예를 들어, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 또는 적어도 10년, 또는 다음 환자의 수명: HPP 환자; 특히 적어도 6주)의 치료 기간 동안. 예를 들어, BPI-SF 점수는 약 -2 또는 그 초과 (예를 들어, 약 -2, 약 -3, 약 -4, 약 -5, 약 -6, 또는 약 -7 또는 그 초과)로 감소하고 sALP로 치료 동안 줄어든 BPI-SF 점수의  $\pm 10\%$ 로 유지한다.

[0137] 대안적으로, 다음의 투여의 경우: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)가 약 -2 또는 그 초과 (예를 들어, 약 -2, 약 -3, 약 -4, 약 -5, 약 -6, 또는 약 -7 또는 그 초과)로 BPI-SF 점수에서의 감소를 초래하지 않는 경우, sALP의 투약량 및/또는 빈도는 HPP 환자에 대한 sALP의 유효량을 결정하기 위해 변화될 수 있다. 예를 들어, sALP의 투약량은 다음과 같이 증가될 수 있다; 예를 들어, 약 2.1 mg/kg/주 또는 약 3.5 mg/kg/주로부터 약 6 mg/kg/주 또는 약 9 mg/kg/주.

[0138] **알칼리성 포스파타제**

[0139] 아스포타제 알파는 하기와 같다: 인간 TNALP (hTNALP; 서열번호:1) 융합 폴리펩타이드로 HPP의 치료를 위해 제형화된 것. 특히, 아스포타제 알파 (서열번호:1)는 연장된 기간 동안 (예를 들어, 적어도 6개월, 적어도 1년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년, 적어도 5년, 적어도 6년, 적어도 7년, 적어도 8년, 적어도 9년, 적어도 10년, 또는 10년보다 더 오래, 예컨대 환자의 수명 동안) 저포스파타제증 (HPP), 그것의 증상, 및 HPP가 있는 성인 ((예를 들어, HPP가 있는 성인)로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인, 또는 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)과 연관된 신체적 손상을 치료하기 위해 효과적으로 사용될 수 있다.

[0140] 본 명세서에 기재된 결과가 주어지면, 본 치료 방법은 특정알칼리성 포스파타제 (ALP) 또는 ALP를 인코딩하는 핵산 서열의 투여에 제한되지 않는다. 알칼리성 포스파타제는 포스페이트 모이어티의 절단 (예를 들어, 파이로포스페이트, PP<sub>i</sub>의 가수분해)을 촉매하는 효소의 군을 포괄한다. 4가지 알려진 포유동물 알칼리성 포스파타제 (ALP) 동질효소가 있다: 조직 비특이적 알칼리성 포스파타제 (TNALP; 하기에 추가로 기재됨), 태반 알칼리성 포스파타제 (PLALP) (예를 들어, 수탁번호 P05187, NP\_112603, 및 NP\_001623), 생식 세포 알칼리성 포스파타제 (GALP) (예를 들어, 수탁번호 P10696), 및 장내 알칼리성 포스파타제 (IALP) (예를 들어, 수탁번호 P09923 및 NP\_001622). 상기 논의된 예시적인 ALP에 부가하여, ALP의 동일한 또는 유사한 촉매 부위 구조 및/또는 효소적 활성을 갖는 임의의 폴리펩타이드가 HPP 환자, 예컨대 HPP가 있는 성인 (예를 들어, HPP가 있는 성인)로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 HPP가 있는 청소년 (예를 들어, 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)을 치료하기 위해 (예를 들어, 본 명세서에서 정의된 바와 같은 sALP 또는 sALP 융합 폴리펩타이드) 사용될 수 있다. sALP를 포함한 뼈 전달 콘주게이트는 다음 특허에 추가로 기재되어 있다 국제 공개 번호:WO 2005/103263 및 WO 2008/138131.

[0141] 본 명세서에서 기재된 방법에 따라 사용될 수 있는 TNALP는, 예를 들어, 인간 TNALP (수탁번호 NP\_000469,

AAI10910, AAH90861, AAH66116, AAH21289, 및 AAI26166); 레수스 TNALP (수탁번호 XP\_01109717); 랫트 TNALP (수탁번호 NP\_037191); 개 TNALP (수탁번호 AAF64516); 돼지 TNALP (수탁번호 AAN64273), 마우스 (수탁번호 NP\_031457), 소 TNALP (수탁번호 NP\_789828, NP\_776412, AAM 8209, 및 AAC33858), 및 고양이 TNALP (수탁번호 NP\_001036028)를 포함한다. 특히, TNALP는 하기와 같을 수 있다: 재조합 인간 TNALP (예를 들어, 서열번호:1, 아스포타제 알파; 다음 참고: 미국특허 번호 7,763,712 및 7,960,529, 이것은 본 명세서에 전체적으로 참고로 편입됨)로 이것은 HPP가 있는 성인 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 HPP가 있는 청소년 (예를 들어, 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년) 같은, HPP 환자의 치료를 위해 사용된다. TNALP는 또한 상기-기재된 TNALP의 폴리펩타이드 또는 핵산 서열에 적어도 약 95% 서열 동일성을 나타내는 것일 수 있다.

[0142] *가용성 알칼리성 포스파타제*

[0143] 본 명세서에서 기재된 방법에서 사용될 수 있는 ALP는 본 명세서에 기재된 임의의 알칼리성 포스파타제의 가용성 (예를 들어, 세포외 또는 비-막-결합) 형태를 포함한다. sALP는, 예를 들어, 인간 조직 비-특이적 알칼리성 포스파타제 (인간 TNALP (hTNALP))의 가용성 형태일 수 있다. 본 방법은 특정 sALP에 제한되지 않고, 예를 들어, 포스포에탄올아민 (PEA), 무기 피로포스페이트 (PPi), 및 피리독살 5'-포스페이트 (PLP)에 대해 생리적으로 활성인 임의의 sALP를 포함할 수 있다. 특히, sALP는 뼈에서 골격 무기화를 개선하는데 촉매적으로 능숙한 것이다. 본 방법은 추가로 본 명세서에 기재된 병태, 예를 들어, HPP, 예컨대 HPP를 갖는 성인 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 HPP가 있는 청소년 (예를 들어, 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)을 치료하기 위해 사용될 수 있는 본 명세서에 기재된 sALP를 인코딩하는 핵산을 포함한다.

[0144] TNALP는 C-말단에서 당지질 모이어티에 의해 고정된 막-결합 단백질이다 (Swiss-Prot, P05186). 이 당지질 앵커 (GPI)는 소수성 C-말단의 제거 후 번역후에 첨가되어, 일시적 막 앵커 및 GPI의 첨가를 위한 신호 둘 모두로서 작용한다. GPI 앵커는 세포막에 위치하는 반면, TNALP의 잔여 부분은 세포외에 있다. 특히, TNALP (예를 들어, 인간 TNALP (hTNALP))는 정지 코돈으로 소수성 C-말단서열의 제1 아미노산 (알라닌)을 대체하도록 조작될 수 있어, 그것에 의해 TNALP의 고유한 고정된 형태의 모든 아미노산 잔기를 함유하고 GPI 막 앵커를 결하는 조작된 hTNALP를 생성한다. 당해 분야의 숙련가는 GPI 막 앵커의 위치는 상이한 ALP에서 다양할 것이고, 그리고 폴리펩타이드의 C-말단 상에, 예를 들어, 마지막 10, 12, 14, 16, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 45, 50, 또는 그 초과 아미노산 잔기를 포함할 수 있다는 것을 인정할 것이다. 재조합 sTNALP는, 예를 들어, 아미노산 1 내지 502 (분비된 경우 18 내지 502), 아미노산 1 내지 501 (분비된 경우 18 내지 501), 아미노산 1 내지 504 (분비된 경우 18 내지 504), 아미노산 1 내지 505 (분비된 경우 18-505), 또는 아미노산 1 내지 502를 포함할 수 있다. 따라서, 고유한 ALP의 C-말단은 ALP 활성에 영향을 미치지 없이 특정 아미노산에 의해 절단될 수 있다.

[0145] C-말단 GPI 앵커에 부가하여, TNALP는 또한 N-말단 신호 펩타이드 서열을 갖는다. N-말단 신호 펩타이드는 이것이 합성될 때 합성된 단백질 상에 존재하지만, ER 안으로 전좌 후 TNALP로부터 절단된다. sALP는 이들의 분비된 (즉, N-말단 신호를 결합) 및 비-분비된 (즉, N-말단 신호를 가짐) 형태 둘 모두를 포함한다. 당해 분야의 숙련가는 N-말단 신호 펩타이드의 위치는 상이한 알칼리성 포스파타제에서 다양할 것이고, 그리고 폴리펩타이드의 N-말단 상에, 예를 들어, 처음 5, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 27, 30, 또는 그 초과 아미노산 잔기를 포함할 수 있다는 것을 인정할 것이다. 당해 분야의 숙련가는, 예를 들어, Bendtsen et al. (*J. Mol. Biol.* 340(4): 783-795, 2004)에 기재되고 [www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/](http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/)에서 웹 상에서 이용가능한 것과 같은 적절한 컴퓨터 알고리즘에 의해 신호 서열 절단 부위의 위치를 예측할 수 있다.

[0146] 본 방법은 또한 ALP 동질효소 (예를 들어, TNALP, PALP, GCALP, IALP, 등)의 세포외 도메인으로부터 유래된 sALP 공통 서열을 사용하여 수행될 수 있다. 따라서, 상기 논의된 sTNALP에 유사하게, 본 개시내용은 또한 다른 가용성 인간 ALP 동질효소를, 즉, 펩타이드 신호 없이, 바람직하게는 ALP의 세포외 도메인을 포함하여 제공한다. sALP는 또한 인간 ALP 동질효소 및 포유동물 TNALP 오쏘로그 (인간, 마우스, 랫트, 소, 고양이, 및 개)의 ALP 세포외 도메인으로부터 유래된 공통서열 또는 단지 포유동물 TNALP 오쏘로그 (인간, 마우스, 랫트, 소, 고양이, 및 개)의 ALP 세포외 도메인으로부터 유래된 공통을 만족하는 폴리펩타이드 서열을 포함한다. sALP는 또한 이들 TNALP 오쏘로그 또는 인간 ALP 동질효소의 다양한 조합으로부터 유래된 유사한 공통 서열을 만족하는 것들을 포함한다. 이러한 공통 서열은, 예를 들어, WO 2008/138131에 주어진다.

[0147] 본 방법의 sALP는 상기 기재된 sALP의 야생형 서열뿐만 아니라 하기에 대해 적어도 50% (예를 들어, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 초과) 서열 동일성을 갖는 임의의 폴리펩타이드를 포함할 수 있다: 이들 알칼리성 포스파타제 (예를 들어, 서열 번호:1-24; 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파). ALP 서열 안으로 도입될 수 있는 돌연 변이의 예는, 전체적으로 본 명세서에 참고로 통합되는, 미국 공개 번호 2013/0323244에 기재되어 있다. sALP는 선택적으로 임의의 적절한 하나 이상의 아미노산 잔기에서 당화될 수 있다. 또한, sALP는 하기에 적어도 50% (예를 들어, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 초과) 서열 동일성을 가질 수 있다: 본 명세서에 기재된 임의의 sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파). sALP는 하기에 비하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 또는 그 초과의 첨가, 결실, 또는 치환을 가질 수 있다: 본 명세서에 기재된 임의의 sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파).

[0148] sALP 융합 폴리펩타이드

[0149] 본 명세서에 기재된 임의의 sALP 및 링커는 sALP 폴리펩타이드, 예를 들어, A-sALP-B의 sALP 폴리펩타이드에 조합될 수 있고, 여기서 각각의 A 및 B는 부재이거나 적어도 하나의 아미노산의 아미노산 서열이다 (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파). 존재할 때, A 및/또는 B는 본 명세서에 기재된 임의의 링커일 수 있다. 일부 sALP 폴리펩타이드에서, A는 부재하고, B는 부재하고, 또는 A 및 B 둘 모두는 부재한다. 본 발명의 sALP 폴리펩타이드는 Fc 영역을 선택적으로 포함하여 본 명세서에서 기재된 바와 같은 sALP 융합 폴리펩타이드를 제공할 수 있다. sALP 폴리펩타이드는 선택적으로 본 명세서에서 기재된 바와 같은 뼈-표적화 모이어티를 포함할 수 있다. 일부 sALP 폴리펩타이드에서, 링커, 예를 들어, 가요성 링커가 뼈-표적화 모이어티와 sALP, 예컨대 디펩타이드 서열 (예를 들어, 류신-라이신 또는 아스파르트산-이소류신) 사이에 포함될 수 있다. 추가의 예시적인 Fc 영역, 링커, 및 뼈-표적화 모이어티가 아래에 기재되어 있다.

[0150] 본 명세서에 기재된 임의의 sALP, 링커, 및 Fc 영역은 융합 폴리펩타이드, 예를 들어, 재조합 융합 폴리펩타이드에 조합될 수 있고, 이들은 하기를 포함한다: 구조 Z-sALP-Y-스페이서-X-W<sub>n</sub>-V, Z-W<sub>n</sub>-X-스페이서-Y-sALP-V, Z-sALP-Y-W<sub>n</sub>-X-스페이서-V, 및 Z-W<sub>n</sub>-X-sALP-Y-스페이서-V (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파). 특히, 구조는 Z-sALP-Y-스페이서-X-W<sub>n</sub>-V 또는 Z-W<sub>n</sub>-X-스페이서-Y-sALP-V일 수 있다. sALP는 ALP의 전장 또는 기능적 단편, 예컨대, 본 명세서에 기재된 바와 같이 ALP의 가용성, 세포의 도메인일 수 있다 (예를 들어, TNALP, PALP, GCALP 및 IALP). X, Y, Z, 및 V 및/또는 스페이서 중 임의의 하나는 부재이거나 적어도 하나의 아미노산의 아미노산 서열일 수 있다. W<sub>n</sub>은, 예를 들어, 일련의 연속적인 Asp 또는 Glu 잔기를 갖는 뼈-표적화 모이어티일 수 있고, 여기서 n = 1 내지 50, 예를 들어, n = 3-30, 예를 들어, 5-15, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 36, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 또는 50이다. 뼈-표적화 모이어티는, 존재할 경우, 융합 폴리펩타이드 내 어디든지, 예를 들어, N-말단 또는 C-말단에 또는 근처에, 및/또는 링커 영역 내에 배치될 수 있다. 예를 들어, 뼈-표적화 모이어티는 C-말단에 있다. sALP 폴리펩타이드 및 융합 폴리펩타이드는 또한 뼈-표적화 모이어티를 포함하지 않을 수 있다.

[0151] 본 발명의 sALP 융합 폴리펩타이드는 구조 hTNALP-Fc-D<sub>10</sub>의 것일 수 있다. 특히, sALP 융합 폴리펩타이드 하기를 포함할 수 있다: 다음 서열번호의 아미노산 서열:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파.

[0152] 유용한 스페이서는, 비제한적으로, Fc를 포함하는 폴리펩타이드, 및 말단의 고도로 음으로 하전된 펩타이드 (예를 들어, W<sub>n</sub>)의 존재에 의해 야기된 척력을 경감시킬 수 있는 친수성 및 가요성 폴리펩타이드를 포함한다. 예를 들어, sALP는 N-말단 또는 C-말단 도메인에서 면역글로불린의 Fc 영역을 포함하는 융합 폴리펩타이드일 수 있다. 면역글로불린 분자는 당해 분야에 공지되어 있는 구조를 갖는다. 이것은 사슬간 디설파이드 결합에 의해 연결된 2개의 경쇄 (각각 ~23 kD) 및 2개의 중쇄 (각각 ~50-70 kD)를 포함한다. 면역글로불린은 Fab (경쇄 및

중쇄의 VH 및 CH1 도메인을 함유함) 및 Fc (인접하는 서열과 함께 중쇄의 CH2 및 CH3 도메인을 함유함)로 단백질 분해로 (예를 들어, 파파인 절단에 의해) 쉽게 절단된다. 본 명세서에서 기재된 바와 같은 유용한 Fc 단편은 임의의 포유동물 (예를 들어, 인간)로부터, IgG, IgM, IgA, IgD, 또는 IgE, 및 그것의 다양한 서브클래스 (예를 들어, IgG-1, IgG-2, IgG-3, IgG-4, IgA-1, IgA-2)를 포함한, 임의의 면역글로불린 분자의 Fc 단편을 포함한다. 예를 들어, Fc 단편은 인간 IgG-1이다. 본 발명의 Fc 단편은, 예를 들어, 중쇄의 CH2 및 CH3 도메인 및 힌지 영역의 임의의 부분을 포함할 수 있다. Fc 영역은 당해 분야의 숙련자에게 알려진 임의의 적절한 하나 이상의 아미노산 잔기에서 선택적으로 당화될 수 있다. 특히, 융합 폴리펩타이드의 Fc 단편은 하기 서열번호의 아미노산 서열을 가지거나:20, 또는 하기 서열번호에 적어도 50% (예를 들어, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 초과) 서열 동일성을 가진다: 20.조작된, 예를 들어, 비-자연 발생, Fc 영역이 예를 들어, 하기에 기재된 바와 같이, 본 발명의 방법에서 이용될 수 있다: 국제 출원 공개번호 W02005/007809, 이것은 이로써 참고로 편입된다. 본 명세서에서 기재된 바와 같은 Fc 단편은 본 명세서에 기재된 임의의 Fc 단편에 비하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 또는 그 초과의 첨가, 결실, 또는 치환을 가질 수 있다.

[0153] 본 명세서에 기재된 sALP 융합 폴리펩타이드 (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)는 Fc 단편 사이에 펩타이드 링커 영역을 포함할 수 있다. 또한, 펩타이드 링커 영역은 Fc 단편과 선택적인 뼈-표적화 모이어티 사이에 포함될 수 있다. 링커 영역은 sALP가, 예를 들어, 입체 장애가 아닌 생물학적 활성을 유지하도록 하는 임의의 서열 및 길이의 것일 수 있다. 예시적인 링커 길이는 1 내지 200 아미노산 잔기, 예를 들어, 1-5, 6-10, 11-15, 16-20, 21-25, 26-30, 31-35, 36-40, 41-45, 46-50, 51-55, 56-60, 61-65, 66-70, 71-75, 76-80, 81-85, 86-90, 91-95, 96-100, 101-110, 111-120, 121-130, 131-140, 141-150, 151-160, 161-170, 171-180, 181-190, 또는 191-200 아미노산 잔기이다. 예를 들어, 링커는 가요성 부분, 예를 들어, 상당한 고정된 이차 또는 삼차 구조가 없는 영역을 포함하거나 이들로 구성된다. 예시적인 가요성 링커는, 예를 들어, 적어도 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 더욱이 100% 글리신 잔기를 함유하는, 글리신-풍부 링커이다. 링커는 또한, 예를 들어, 세린 잔기를 함유할 수 있다. 일부 경우에, 링커의 아미노산 서열은 글리신 및 세린 잔기로만 구성된다. 링커는 임의의 적절한 하나 이상의 아미노산 잔기에서 선택적으로 당화될 수 있다. 추가로, 본 명세서에서 기재된 바와 같은 링커는 공유적으로 또는 비-공유적으로 부착된 임의의 다른 서열 또는 모이어티를 포함할 수 있다. 링커는 또한 부재할 수 있고, 여기서 Fc 단편과 sALP는 개재하는 잔기 없이 직접적으로 함께 융합된다. 특정 Fc-sALP 또는 sALP-Fc 융합 폴리펩타이드는 1) 링커를 갖지 않는 것으로, 또는 2) sALP의 부분에 상응하는 링커를 갖는 것으로, 본 개시내용에 따라 관찰될 수 있다. 예를 들어, hsTNALP (1-502)에 직접적으로 융합된 Fc는, 예를 들어, hsTNALP가 아미노산 1-502인 링커를 갖지 않는 것으로, 또는 hsTNALP (18-502)인 17-아미노산 링커를 갖는 것으로 관찰될 수 있다.

[0154] 추가의 아미노산 잔기는 융합 폴리펩타이드를 생성하기 위해 사용된 클로닝 전략에 따라 폴리펩타이드 안으로 도입될 수 있다. 예를 들어, 추가의 아미노산 잔기는 가용성 형태로 폴리펩타이드를 유지하기 위해 추가의 GPI 고착 신호를 제공하지 않는다. 게다가, 본 발명의 폴리펩타이드 안으로 편입될 때, 임의의 이러한 추가의 아미노산 잔기는 숙주 세포의 엔도프로테아제에 대한 절단 부위를 제공하지 않는다. 설계된 서열이 숙주 세포의 엔도프로테아제에 의해 절단될 가능성은, 예를 들어, 하기 문헌에 기재된 바와 같이 예상될 수 있다: Ikezawa (*Biol. Pharm. Bull.*25:409-417, 2002).

[0155] 본 발명의 sALP 및 sALP 융합 폴리펩타이드 (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)는 이량체 또는 사량체로 연관될 수 있다. 예를 들어, 2개 sALP-Fc 단량체는 Fc 단편의 힌지 영역에 위치한 2개의 디설파이드 결합을 통해 공유적으로 연결될 수 있다. 추가로, 본 발명의 폴리펩타이드 또는 융합 폴리펩타이드 (예를 들어, sALP 폴리펩타이드 또는 융합 폴리펩타이드)는 당화 또는 폐길화될 수 있다.

[0156] **핵산 및 폴리펩타이드의 생산**

[0157] 다음을 인코딩하는 핵산: sALP 및 sALP 융합 폴리펩타이드 (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)은 당해 분야에 알려진 임의의 방법에 의해 생산될 수 있다. 전형적으로, 원하는 융합 폴리펩타이드를 인코딩하는 핵산은 분자 클로닝 방법을 사용하여 생성되고, 그리고 일반적으로 벡터, 예컨대 플라스미드 또는 바이러스 내에 배치된다. 벡터는 핵산을 융합 폴리펩타이드의 발현에 적절한 숙주 세포 안으로

형질변환하기 위해 사용된다. 대표적인 방법은, 예를 들어, Maniatis et al. (Cold Springs Harbor Laboratory, 1989)에 개시되어 있다. 많은 세포 유형이 적절한 숙주 세포로서 사용될 수 있지만, 포유동물 세포는 적절한 번역후 변형을 부여할 수 있기 때문에 이들이 바람직하다. 숙주 세포는, 예를 들어, 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포, L 세포, C127 세포, 3T3 세포, BHK 세포, COS-7 세포 또는 당 업계에서 알려진 임의의 다른 적합한 숙주 세포를 포함할 수 있다. 예를 들어, 숙주 세포는 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포 (예를 들어, CHO-DG44 세포)이다.

[0158] sALP 및 sALP 융합 폴리펩타이드 (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)는 숙주 세포 내 sALP 폴리펩타이드의 발현을 유효하게 하기에 적합한 임의의 조건하에서 생산될 수 있다. 이러한 조건은 완충액, 바이카보네이트 및/또는 HEPES, 염화물, 포스페이트, 칼슘, 나트륨, 칼륨, 마그네슘, 철 같은 이온, 단당 같은 탄소 원, 아미노산, 잠재적으로 지질, 뉴클레오타이드, 비타민 및 인슐린 같은 성장인자와 같은 성분으로 제조된 배지; 2-4 mM L-글루타민 및 5% 우태 혈청이 보충된 알파-MEM, DMEM, Ham' s-F12, 및 IMDM 같은 규칙적 상업적으로 입수가능한 배지; 2-4 mM L-글루타민이 보충된 Hyclone™ SFM4CHO, Sigma CHO DHFR<sup>+</sup>, Cambrex POWER™ CHO CD 같은 규칙적 상업적으로 입수가능한 동물 단백질 없는 배지의 적절한 선택을 포함한다. 이들 배지는 바람직하게는 선택적 압력을 유지하도록 티미딘, 하이포잔틴 및 L-글리신 없이 제조되어, 안정한 단백질-생성물 발현을 가능하게 한다.

[0159] **약제학적 조성물 및 제형**

[0160] 본 명세서에서 기재된 방법에서 사용될 수 있는 조성물 (예를 들어, 하기를 포함함: sALP 또는 sALP 융합 폴리펩타이드, 예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)은 당해 분야에서 알려진 다양한 방법에 의해 투여될 수 있다. 숙련가에 의해 인정되는 바와 같이, 경로 및/또는 투여 방식은 원하는 결과에 따라 다양할 것이다. 투여 경로는 다양한 인자, 예컨대 환경 및 치료적 목표에 의존할 수 있다. 특히, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 및 융합 폴리펩타이드는 당 업계에서 알려진 임의의 경로에 의해, 예를 들어, 피하 (예를 들어, 피하 주사에 의한), 정맥내로, 경구로, 비강으로, 근육내로, 설하로, 척추강내로, 또는 진피내로 투여될 수 있다. 예로써, 본 명세서에서 기재된 방법에서 사용될 수 있는 약제학적 조성물은 액체, 용액, 현탁액, 알약, 캡슐, 정제, 젤라틴캡슐, 분말, 겔, 연고, 크림, 분무제, 연무, 분무화된 증기, 에어로졸, 또는 파이토솜의 형태로 될 수 있다.

[0161] **투약량**

[0162] 임의의 양의 약제학적 조성물 (예를 들어, 하기를 포함함: sALP 또는 sALP 융합 폴리펩타이드, 예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)이 HPP가 있는 성인 (예를 들어, 약 18세 이상 연령의 HPP가 있는 성인, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 HPP가 있는 청소년 (예를 들어, 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)에게 투여될 수 있다. 투약량은 투여 방식 및 환자의 연령을 포함한 많은 인자에 의존할 것이다. 예를 들어, sALP 폴리펩타이드 (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)로 본 명세서에 기재된 것이 HPP 환자, 예컨대 HPP가 있는 성인 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 HPP가 있는 청소년 (예를 들어, 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)에게, 예를 들어, 0.01 mg/kg 내지 500 mg/환자의 kg (예를 들어, 0.05 mg/kg 내지 500 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 20 mg/kg, 5 mg/kg 내지 500 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 100 mg/kg, 10 mg/kg 내지 100 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 50 mg/kg, 0.5 mg/kg 내지 25 mg/kg, 1.0 mg/kg 내지 10 mg/kg, 1.5 mg/kg 내지 5 mg/kg, 또는 2.0 mg/kg 내지 3.0 mg/kg) 또는 1 µg/kg 내지 1,000 µg/kg (예를 들어, 5 µg/kg 내지 1,000 µg/kg, 1 µg/kg 내지 750 µg/kg, 5 µg/kg 내지 750 µg/kg, 10 µg/kg 내지 750 µg/kg, 1 µg/kg 내지 500 µg/kg, 5 µg/kg 내지 500 µg/kg, 10 µg/kg 내지 500 µg/kg, 1 µg/kg 내지 100 µg/kg, 5 µg/kg 내지 100 µg/kg, 10 µg/kg 내지 100 µg/kg, 1 µg/kg 내지 50 µg/kg, 5 µg/kg 내지 50 µg/kg, 또는 10 µg/kg 내지 50 µg/환자의 kg)의 범위인 개별 용량으로 투여될 수 있다.

[0163] 예시적인 sALP의 용량은, 예를 들어, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 2, 2.5, 5, 10, 20, 25, 50, 100, 125, 150, 200, 250, 또는 500 mg/kg; 또는 1, 2, 2.5, 5, 10, 20, 25, 50, 100, 125, 150, 200, 250, 500, 750, 900, 또는 1,000 µg/kg을 포함한다. 특히, 조성물 (예를 들어, 하기를 포함함: sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음

서열번호의 sALP 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파))로 본 개시내용에 따른 것은 환자에게 약 0.001 mg/kg/1일 내지 약 500 mg/kg/1일, 약 0.01 mg/kg/1일 내지 약 100 mg/kg/1일, 또는 약 0.01 mg/kg/1일 내지 약 20 mg/kg/1일의 범위인 용량으로 투여될 수 있다. 예를 들어, sALP 조성물 (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)은, 예를 들어, 약 0.5 mg/kg/주 내지 약 140 mg/kg/주, 예를 들어, 약 0.8 mg/kg/주 내지 약 50 mg/kg/주, 또는 약 1 mg/kg/주 내지 약 10 mg/kg/주 (예를 들어, 약 6 또는 약 9 mg/kg/주)의 범위인 매주 투약량으로 환자에게 투여될 수 있다. 특히, sALP (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)는 2 mg/kg 매주 3회 (총 용량 6 mg/kg/주), 1 mg/kg 매주 6회 (총 용량 6 mg/kg/주), 3 mg/kg 매주 3회 (총 용량 9 mg/kg/주), 0.5 mg/kg 매주 3회 (1.5 mg/kg/주의 총 용량), 또는 9.3 mg/kg 매주 3회 (총 용량 28 mg/kg/주)의 투약량으로 투여될 수 있다. 투약량은 HPP 환자, 예컨대 HPP가 있는 성인(예를 들어, 약 18세 이상 연령의 HPP가 있는 성인, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 HPP가 있는 청소년 (예를 들어, 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)으로부터 질환의 규모 및 상이한 파라미터와 같은 종래의 인자에 따라 임상 의에 의해 적용될 것이다.

[0164] 하기를 포함한 조성물의 투약량: sALPs 및 sALP 융합 폴리펩타이드 (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)은 단일 또는 다중 투약 요법 중 어느 하나로 제공될 수 있다. 용량은, 예를 들어, 매시간, 2시간마다, 매일, 격일, 매주 2회, 매주 3회, 매주 4회, 매주 5회, 매주 6회, 매주, 격주로, 매월, 격월, 또는 매년 투여될 수 있다. 대안적으로, 용량은, 예를 들어, 2 회, 3 회, 4 회, 5 회, 6 회, 7 회, 8 회, 9 회, 10 회, 11 회, 또는 12 회/일 투여될 수 있다. 특히, 투약 레지멘은 매주 1회이다. 투약 레지멘의 기간은, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30 일(들), 주(들), 또는 개월(들), 또는 더욱이 HPP 환자, 예컨대 HPP가 있는 성인(예를 들어, 약 18세 이상 연령의 HPP가 있는 성인, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 HPP가 있는 청소년 (예를 들어, 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)의 나머지 수명 동안일 수 있다. 투약량의 양, 빈도, 및 기간은 HPP 환자, 예컨대 HPP가 있는 성인(예를 들어, 약 18세 이상 연령의 HPP가 있는 성인, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 HPP가 있는 청소년 (예를 들어, 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)로부터의 질환의 규모 및 상이한 파라미터와 같은 종래의 인자에 따라 임상 의에 의해 적용될 것이다.

[0165] 예를 들어, sALP 또는 sALP 융합 폴리펩타이드 (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)는 깨끗한, 무색 내지 약간 황색, 수용액, pH 7.4인 주사용 용액으로 제형화될 수 있다. sALP 또는 sALP 폴리펩타이드 (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)는 12mg/0.3mL, 18mg/0.45mL, 28mg/0.7mL, 40mg/1ml, 또는 80mg/0.8mL의 농도로 제형화될 수 있다. 특히, 본 조성물은 주사용 40 mg/ml 용액으로 제형화될 수 있고, 여기서 용액의 각 mL는 40 mg의 sALP 또는 sALP 폴리펩타이드를 함유한다 (예를 들어, 각 바이알은 0.3 ml 용액 및 12 mg의 sALP (40 mg/ml)를 함유하고, 각 바이알은 0.45 ml 용액 및 18 mg의 sALP (40 mg/ml)를 함유하고, 각 바이알은 0.7 ml 용액 및 28 mg의 sALP(40 mg/ml)를 함유하고, 또는 각 바이알은 1.0 ml 용액 및 40 mg의 아스포타제 알파 (40 mg/ml)를 함유한다). SALP 또는 sALP 폴리펩타이드 (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)는 100 mg/ml의 농도로 주사용 용액으로 제형화될 수 있고, 여기서 각각의 1 mL의 용액은 100 mg의 sALP 또는 sALP 폴리펩타이드를 함유한다 (예를 들어, 각각의 바이알은 0.8 ml 용액 및 80 mg의 아스포타제 알파 (100 mg/ml)를 함유한다). 환자에 주사된 sALP의 용적은, 예를 들어, 0.15 ml, 0.18 ml, 0.20 ml, 0.23 ml, 0.25 ml, 0.28 ml, 0.30 ml, 0.33 ml, 0.35 ml, 0.38 ml, 0.40 ml, 0.43 ml, 0.45 ml, 0.48 ml, 0.50 ml, 0.63 ml, 0.75 ml, 0.88 ml, 또는 1.00 ml일 수 있다.

[0166] 예를 들어, 하기의 권고된 투약량: sALP 또는 sALP 융합 폴리펩타이드 ((예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)은 주당 3회 피하로 투여된 2 mg/체중 kg이거나, 또는 주당 6회 피하로 투여된 1 mg/체중 kg의 투약 요법이다. 추가의 투약량 정보는 아래에 제공되어 있다 (표 1). 특히, 6 mg/kg/주의 투약량이 투여되는 40 kg 환자는 매주 0.8 ml 3회로 80 mg의 sALP 또는 매주 1.00 ml 6회로 40 mg의 sALP의 주사를 투여 받을 수 있는 반면 6 mg/kg/주의 투약량이 투여되는 50 kg 환자는 매주 0.05 ml 6회로 50 mg의 sALP의

주사를 투여 받을 수 있다.

표 1. 아스포타제 알파의 투약

체중 (kg)	주당 3x 주사하면			주당 6x 주사하면		
	주사될 용량	주사될 용적	주사에 사용되는 바이알 유형	주사될 용량	주사될 용적	주사에 사용되는 바이알 유형
3	6 mg	0.15 ml	0.3 ml			
4	8 mg	0.20 ml	0.3 ml			
5	10 mg	0.25 ml	0.3 ml			
6	12 mg	0.30 ml	0.3 ml	6 mg	0.15 ml	0.3 ml
7	14 mg	0.35 ml	0.45 ml	7 mg	0.18 ml	0.3 ml
8	16 mg	0.40 ml	0.45 ml	8 mg	0.20 ml	0.3 ml
9	18 mg	0.45 ml	0.45 ml	9 mg	0.23 ml	0.3 ml
10	20 mg	0.50 ml	0.7 ml	10 mg	0.25 ml	0.3 ml
11	22 mg	0.55 ml	0.7 ml	11 mg	0.28 ml	0.3 ml
12	24 mg	0.60 ml	0.7 ml	12 mg	0.30 ml	0.3 ml
13	26 mg	0.65 ml	0.7 ml	13 mg	0.33 ml	0.45 ml
14	28 mg	0.70 ml	0.7 ml	14 mg	0.35 ml	0.45 ml
15	30 mg	0.75 ml	1 ml	15 mg	0.38 ml	0.45 ml
16	32 mg	0.80 ml	1 ml	16 mg	0.40 ml	0.45 ml
17	34 mg	0.85 ml	1 ml	17 mg	0.43 ml	0.45 ml
18	36 mg	0.90 ml	1 ml	18 mg	0.45 ml	0.45 ml
19	38 mg	0.95 ml	1 ml	19 mg	0.48 ml	0.7 ml
20	40 mg	1.00 ml	1 ml	20 mg	0.50 ml	0.7 ml
25	50 mg	0.50 ml	0.8 ml	25 mg	0.63 ml	0.7 ml
30	60 mg	0.60 ml	0.8 ml	30 mg	0.75 ml	1 ml
35	70 mg	0.70 ml	0.8 ml	35 mg	0.88 ml	1 ml
40	80 mg	0.80 ml	0.8 ml	40 mg	1.00 ml	1 ml
50				50 mg	0.50 ml	0.8 ml
60				60 mg	0.60 ml	0.8 ml
70				70 mg	0.70 ml	0.8 ml
80				80 mg	0.80 ml	0.8 ml
90				90 mg	0.90 ml	0.8 ml (x2)
100				100 mg	1.00 ml	0.8 ml (x2)

[0167]

[0168]

[0169]

제형

하기를 포함하는 조성물: sALP 및 sALP 융합 폴리펩타이드 (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)은 표준 방법에 따라 제형화될 수 있다. 약제학적 제형은 잘-확립된 기술이고, 예를 들어, 하기 문헌에 추가로 기재되어 있다: Gennaro (2000) *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 20<sup>th</sup> Edition, Lippincott, Williams & Wilkins (ISBN:0683306472); Ansel et al. (1999) *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 7<sup>th</sup> Edition, Lippincott Williams & Wilkins Publishers (ISBN:0683305727); 및 Kibbe (2000) *Handbook of Pharmaceutical Excipients American Pharmaceutical Association*, 3<sup>rd</sup> Edition (ISBN:091733096X). 예를 들어, sALP 조성물 (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)은, 예를 들어, 적합한 농도에서 그리고 2-8° C (예를 들어, 4° C)에서 저장에 적합한 완충 용액으로 제형화될 수 있다. 조성물은 또한 0° C 이하 온도 (예를 들어, -20° C 또는 -80° C)에서 저장을 위해 제형화될 수 있다. 조성물은 추가로 2-8° C (예를 들어, 4° C)에서 최대 2년 (예를 들어, 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 1년, 1½년, 또는 2년) 동안 저장을 위해 제형화될 수 있다. 따라서, 본 명세서에 기재된 조성물은 2-8° C (예를 들어, 4° C)에서 적어도 1년 동안 저장에서 안정할 수 있다.

[0170]

하기를 포함하는 조성물: sALP 및 sALP 융합 폴리펩타이드 (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 폴

리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)은 다양한 형태로 될 수 있다. 이들 형태는, 예를 들어, 액체, 반-고체 및 고형 투약 형태, 예컨대 액체 용액 (예를 들어, 주사가능 및 불용성 용액), 분산물 또는 현탁액, 정제, 알약, 분말, 리포솜 및 좌약을 포함한다. 바람직한 형태는, 부분적으로, 의도된 투여 방식 및 치료적 적용에 의존한다.

[0171] 예를 들어, 전신 또는 국소 전달을 위해 의도된 조성물은 주사가능 또는 불용성 용액의 형태로 될 수 있다. 따라서, 조성물 (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)는 비경구 방식 (예를 들어, 피하, 정맥내, 복강내, 또는 근육내 주사)에 의한 투여를 위해 제형화될 수 있다.

[0172] 하기를 포함하는 조성물: sALP 및 sALP 융합 폴리펩타이드 (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 융합 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)은 농도에서 안정한 저장을 위해 적합한 용액, 마이크로에멀션, 분산물, 리포솜, 또는 다른 정렬된 구조로 제형화될 수 있다. 멸균 주사가능 용액은 요구되는 바와 같이, 상기 열거된 성분 중 하나 또는 조합을 갖는 적절한 용매에 요구된 양으로 본 명세서에 기재된 조성물을 합체하고 이어서 필터 멸균함에 의해 제조될 수 있다. 일반적으로, 분산물은 기본 분산매 및 상기 열거된 것들로부터 요구된 다른 성분을 함유하는 멸균 비히클 안으로 본 명세서에 기재된 조성물을 합체함에 의해 제조된다. 멸균 주사가능 용액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우에, 제조 방법은 이것의 이전에 멸균-여과된 용액으로부터 본 명세서에 기재된 조성물 플러스 임의의 추가의 원하는 성분 (하기 참고)의 분말을 생성하는 진공 건조 및 냉동-건조를 포함한다. 용액의 적절한 유체성은, 예를 들어, 코팅 예컨대 레시틴의 사용에 의해, 분산물의 경우에 요구된 입자 크기의 유지에 의해, 그리고 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 주사가능 조성물의 장기적인 흡수는 흡수를 지연시키는 시약, 예를 들어, 모노스테아레이트 염, 및 젤라틴을 조성물에 포함시킴에 의해 초래될 수 있다.

[0173] 본 명세서에 기재된 조성물은 또한 면역리포솜 조성물에 제형화될 수 있다. 이러한 제형은, 예를 들어, 하기 문헌 등에 기재된 방법과 같은, 당해 분야에서 알려진 방법에 의해 제조될 수 있다: Epstein et al. (1985) *Proc Natl Acad Sci USA* 82:3688; Hwang et al. (1980) *Proc Natl Acad Sci USA* 77:4030; 및 미국특허 번호 4,485,045 및 4,544,545. 향상된 순환 시간을 갖는 리포솜이, 예를 들어, 하기 특허에 개시되어 있다: 미국특허 번호 5,013,556.

[0174] 하기를 포함하는 조성물: sALP 및 sALP 융합 폴리펩타이드 (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)는 또한, 이식물 및 마이크로캡슐화된 전달 시스템을 포함한, 조절 방출 제형과 같이 빠른 방출에 대해 조성물 (예를 들어, sALP 폴리펩타이드 또는 sALP 융합 폴리펩타이드)을 보호할 담체로 제형화될 수 있다. 생분해성, 생체적합성 폴리머, 예컨대 에틸렌비닐아세테이트, 폴리무수물, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르, 및 폴리락트산이 사용될 수 있다. 이러한 제형의 제조에 대한 많은 방법이 당해 기술에 공지되어 있다. 예를 들어, 하기 참고: J.R.Robinson (1978) *Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems*, Marcel Dekker, Inc., New York.

[0175] 조성물이 제2 활성제와 함께 사용되어 질 때, 조성물은 제2 제제로 공동-제형화될 수 있거나, 또는 조성물은 제2 제제 제형과 별도로 제형화될 수 있다. 예를 들어, 각각의 약제학적 조성물은, 예를 들어, 투여 직전 혼합될 수 있고, 함께 투여될 수 있거나 또는 별도로, 예를 들어, 동시에 또는 상이한 시간에 투여될 수 있다.

[0176] 담체/비히클

[0177] 하기를 함유하는 조제품: sALP 또는 sALP 융합 폴리펩타이드 (예컨대 TNALP, 예를 들어 다음 서열번호의 sALP 폴리펩타이드:1 또는 다음 서열번호의 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 변이체:1, 예를 들어, 아스포타제 알파)는 약제학적으로 허용가능한 멸균 수성 또는 비-수성 용매, 현탁액 또는 에멀션과 조합하여, HPP 환자, 예컨대 HPP가 있는 성인 (예를 들어, HPP가 있는 성인으로 약 18세 이상 연령, 예컨대 소아-개시 HPP가 있는 성인) 또는 HPP가 있는 청소년 (예를 들어, 약 13세 내지 약 17세의 HPP가 있는 청소년)에게 제공될 수 있다. 비-수성 용매의 예는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 식물성 오일, 물고기 오일, 및 주사가능 유기 에스테르이다. 수성 담체는 염수를 포함한 물, 수-알코올 용액, 에멀션 또는 현탁액, 및 염화나트륨 용액, 링거 텍스트로스 용액, 텍스트로스 플러스 염화나트륨 용액, 락토스 함유 링거액, 또는 고정유를 포함한 완충된 의료 비경구 비히클을 포함한다. 예를 들어, 약제학적으로 허용가능한 담체는 하기를 포함할 수 있다: 염화나트륨 및/또는 인산나트륨, 여기서 조성물은, 예를 들어, 약 150 mM 염화나트륨 및/또는 약 25 mM 인산나트륨, pH 7.4를 포함한다.

[0178] 징맥내 비히클은 유체 및 영양소 보충물, 전해질 보충물, 예컨대 링거 텍스트로스, 및 기타 동종의 것에 기반된 것을 포함할 수 있다. 약제학적으로 허용가능한 염, 예를 들어, 무기산 염 예컨대 하이드로클로라이드, 하이드로브로마이드, 포스페이트, 설페이트, 및 기타 동종의 것; 및 유기산 예컨대 아세테이트, 프로피오네이트, 말로네이트, 벤조에이트, 및 기타 동종의 것의 염이 그 안에 포함될 수 있다. 추가로, 보조 물질, 예컨대 습윤 또는 유화제, pH 완충 물질, 및 동종의 것이 이러한 비히클 안에 존재할 수 있다. 약제학적으로 허용가능한 담체의 철저한 논의는 하기 문헌에서 이용가능하다: *Remington's Pharmaceutical Sciences* (Mack Pub.Co., N.J. 1991).

[0179] 하기 실시예는 본 개시내용을 제한하기보다는 설명하기 위한 것이다. 이들 연구는 하기를 특징으로 한다; 다음의 투여, 즉 아스포타제 알파 (서열번호:1)를 HPP가 있는 성인, 예컨대 소아-개시 약 18세 이상 연령의 HPP가 있는 성인, 또는 HPP가 있는 청소년에 투여, 아스포타제 알파의 투여 후 이들 환자에서 HPP 증상의 분석, 및 연장된 기간 동안 이들과 연관된 신체적 손상.

[0180] **실시예 1. 아스포타제 알파로 소아-개시 저포스포타제증 (HPP) 환자의 치료**

[0181] 약 12세 내지 약 66세의 저포스포타제증 (HPP)이 있는 청소년 및 성인이 하기 포스포타제로 치료의 효능, 안전성, 및 내성을 결정하기 위한 연구에 참여했다: 가용성 알칼리성 포스포타제 (sALP) (아스포타제 알파; 서열번호:1). 약 18세 내지 약 66세의 소아-개시 저포스포타제증 (HPP)이 있는 12명 성인의 부분모집단 분석이 수행되어 아스포타제 알파로 치료로부터 생화학적 및 기능적 개선을 조사하였다. 6개월 동안의 초기 단계 연구 동안, HPP가 있는 9명 성인이 아스포타제 알파로 치료를 받았고 (치료 그룹) 그리고 HPP가 있는 3명 성인은 아스포타제 알파로 치료를 받지 않았다 (대조군 그룹). 대조군 그룹에서 HPP 증상의 개시의 중위 연령은 최소 0.8세 연령 및 최대 4세 연령으로 3세 연령인 반면, 치료 그룹에서 HPP 증상의 개시의 중위 연령은 최소 0.1세 연령 및 최대 4세 연령으로 2세 연령이었다 (표 2, 투약 치료 군 (2.1 mg/kg/주 및 3.5 mg/kg/주)은 모든 결과에 대해 조합되었다). 데이터는 달리 명시되지 않는 한 중앙 (최소, 최대)로 표현되어 있다. 총 대조군 성인 중 2명은 여성 (67%)이고 치료된 성인 중 7명은 여성이었다 (78%).

**표 2. 아스포타제 알파로 치료 이전 소아-개시 HPP 환자에 대한 기준선 특성.**

특징	초기 그룹 배정		전체적 (N=12)
	대조군 (n=3)	병용 치료 (n=9)	
등록 시 연령, 세	21 (13, 58)	55 (14, 66)	53 (13, 66)
등록 시 연령, 세	54 (26, 58)	56 (45, 66)	55 (26, 66)
등록 시 연령 카테고리, n (%)			
성인 (연령 ≥18세)	3 (100)	9 (100)	12 (100)
증상 개시 시 연령, 세 (최소, 최대)	3 (0.8, 4)	2 (0.1, 13)	2.5 (0.1, 13)
증상 개시 시 연령 카테고리, n (%)			
<18세	3 (100)	9 (100)	12 (100)
여성, n (%)	2 (67)	7 (78)	9 (75)

[0182]

[0183] 아스포타제 알파로 치료를 위해 선택된 HPP 환자는 연령-조정된 정상 범위 이하의 혈청 ALP, 적어도 2회에서 보다 높은 정상 한계의 혈장 피리독살 5'-포스페이트 (PLP) 농도, 및 골격 방사선사진 및/또는 뼈 생검에서 골감소증 또는 골연화증의 증거를 가졌다. 정상 범위 이하의 혈청 칼슘 또는 포스페이트 수준, 20 ng/mL 미만의 혈청 비타민 D 수준, 정상인 상한치 이상의 혈청 크레아티닌 또는 부갑상선 호르몬 수준, 또는 연구 프로토콜이 환자 순응을 상당히 방해할 수 있는 의료 병태 또는 다른 잠재할 만한 상황에 대해 환자는 연구로부터 배제되었다.

[0184] 6개월 동안 아스포타제 알파로의 치료 초기 단계 동안, 4명 성인은 0.3 mg/kg/1일 (2.1 mg/kg/주)의 투약량으로 아스포타제 알파를 투여 받고 5명 성인은 피하 투여를 통해 0.5 mg/kg/1일 (3.5 mg/kg/주)의 투약량으로 아스포타제 알파를 투여 받았다. 초기 대조군 그룹에서 3명 환자는 아스포타제 알파 치료를 받지 않았다. 초기 단계 연구에 이어서, 치료 및 대조군 그룹 환자 둘 모두 (12명 총 환자)는 아스포타제 알파로 치료를 받았다. 아스포

타제 알파는 0.5 mg/kg/1일 (3.5 mg/kg/주)의 초기 용량에서 피하 투여를 통해 투여되었고, 이것은 1년 후 6일에 걸쳐 매일 1회 피하 투여를 통한 1 mg/kg/1일 투여되는 것 (6 mg/kg/주)으로 증가되었다. 아스포타제 알파의 투약량은 나머지의 확장 단계 동안 6 mg/kg/주로 유지되었다.

[0185] 아스포타제 알파로 HPP 소아-개시 성인의 치료를 평가하기 위해 확장 단계 동안 사용된 메트릭스는 하기를 포함했다: 1) ALP 활성을 평가하기 위한 환자 혈장 샘플에서 무기 파이로포스페이트 (PPi) 및 피리독살 5'-포스페이트 (PLP) 농도에서의 변화; 2) 걷기 능력을 평가하기 위한 6분 걷기 테스트 (6MWT) 값; 및 3) 신체 기능을 평가하기 위한 운동 능력의 Bruininks-Oseretsky 테스트, 제2 판 (BOT-2) 점수.

[0186] 실시예 2. 아스포타제 알파의 투여 후 혈장 무기 파이로포스페이트 (PPi) 및 피리독살 5'-포스페이트 (PLP) 농도에서 통계적으로 상당한 증양 감소

[0187] HPP 성인으로부터 수집된 혈장 샘플 내 ALP 활성은 하기 문헌에 기재된 바와 같이 ALP 기질 PPi 및 PLP의 농도를 정량함에 의해 평가되었다: Whyte 등, 1995 (*J. Clin. Invest.* 95(4): 1440-1445), 이것은 이로써 전체적으로 참고로 편입된다. 대조군 성인 및 아스포타제 알파로 치료된 성인으로부터의 혈장 샘플에서 증양 PPi 및 PLP 농도는 정상 범위로부터의 기준선에서 상승되었다 (표 3). 유사하게, ALP 활성 값은 정상 (LLN) ALP 활성 값의 연령- 및 성별-조정된 하한 (18 내지 50세 미만에 대해 31 U/L 또는 50 내지 70세 미만에 대해 35 U/L)에 비교하여 대조군 그룹 (21.0 U/L) 및 치료 그룹 (18.0 U/L)에 대해 상대적으로 낮았다.

표 3. 아스포타제 알파로 치료 이전 소아 개시 HPP가 있는 성인에 대한 알칼리성 포스파타제 (ALP) 활성과 혈장 무기 파이로포스페이트 (PPi) 및 피리독살 5'-포스페이트 (PLP) 농도의 측정. 모든 데이터는 달리 나타내지 않는 한 증양 (최소, 최대)으로 표시하였다. <sup>a</sup>초기 치료 그룹은 분석을 위해 조합된다. <sup>b</sup>대조군 및 치료 성인은 모든 성인이 확장 단계에서 치료를 받기 때문에 조합된다. LLN, 정상 하한

특징	초기 그룹 배정		전체적 (N=12) <sup>b</sup>
	미치료된 대조군 (n=3)	병용 치료 (n=9) <sup>a</sup>	
ALP, U/L LLN (연령- 및 성별-조정됨) 18 내지 <50세: 31 (M), 31 (F) ≥50 내지 <70세: 35 (M), 35 (F)	21.0 (18.0, 26.0)	18.0 (18.0, 35.0)	18.0 (18.0, 35.0)
PPi, μM 정상 범위 13-18y :<0.75-4.78 >18y:1.00-5.82	5.9 (5.2, 6.6)	5.5 (2.2, 8.2)	5.7 (2.2, 8.2)
PLP, ng/mL 정상 범위: 5-18y:5.7-61.2 >18y: 2.8-26.7	199.0 (196.0, 474.0)	267.0 (28.8, 1270.0)	233.0 (28.8, 1270.0)

[0188] 증양 혈장 PPi 농도는 기준선에서 대조군 그룹에 대해 5.9 μM (5.2 μM의 최소 혈장 PPi 농도; 6.6 μM의 최대 혈장 PPi 농도) 및 기준선에서 치료 그룹에 대해 5.5 μM (2.2 μM의 최소 혈장 PPi 농도; 8.2 μM의 최대 혈장 PPi 농도)이었다 (표 3). 혈장 PPi 농도는 미치료된 대조군 그룹에 대한 -0.3의 변화에 비교하여 아스포타제 알파로 치료된 환자에 대해 -3.0의 기준선으로부터의 통계적으로 상당한 증양 변화에 의해 나타난 바와 같이, 아스포타제 알파로 치료 6개월 후 감소하였다 (도 1A). 기준선으로부터의 PPi 농도에서 증양 변화에 대한 P-값은 대조군 그룹에 치료 그룹을 비교한 정확한 윌콕슨 순위 합계 테스트에 기반하여 0.0364였다. 2개의 상이한 투약량 그룹에 대한 아스포타제 알파로 치료 6개월 후 혈장 PPi 농도의 분석은 다음과 같은 기준선으로부터 증양 변화가 있었다는 것을 나타냈다: -2.870으로 다음으로 치료된 환자에 대한 변화; 0.3 mg/kg/1일 아스포타제 알파 및 -2.990으로 다음으로 치료된 환자에 대한 변화; 0.5 mg/kg/1일 아스포타제 알파 (표 4, 대조군 그룹에 각각의 치료 그룹을 비교한 정확한 윌콕슨 순위 합계 테스트에 기반한 P-값; 추정 및 정확한 신뢰 구간은 치료 그룹과 대조군 그룹 사이의 분포에서 위치 전이에 대한 Hodges-Lehmann-Sen 방법으로 부터의 것이다).

표 4. 6개월 동안 아스포타제 알파로 치료 후 소아 개시 HPP가 있는 성인에 대한 PPi 농도의 통계적인 분석

통계	대조군 그룹 (n=3)	아스포타제 알파 0.3 mg/kg/1일(n=4)	아스포타제 알파 0.5 mg/kg/1일(n=5)	조합된 아스포타제 알파 (n=9)
n	3	4	5	9
평균 (SD)	-0.060 (1.0193)	-2.790 (1.4903)	-2.258 (1.4739)	-2.494 (1.4134)
95% CI	(-2.592, 2.472)	(-5.161, -0.419)	(-4.088, -0.428)	(-3.581, -1.408)
중앙	-0.340	-2.870	-2.990	-2.990
최소, 최대	-0.91, 1.07	-4.40, -1.02	-3.18, 0.32	-4.40, 0.32
P-값		0.0571	0.1429	0.0364
추정치		-2.925	-2.270	-2.640
95% CI <sup>b</sup>		(NA, NA)	(-4.250, 1.230)	(-4.250, -0.110)

[0190]

[0191]

중앙 혈장 PLP 농도는 기준선에서 대조군 그룹에 대해 199.0 ng/ml (196.0 ng/ml의 최소 혈장 PLP 농도; 474.0 ng/ml의 최대 혈장 PLP 농도) 및 기준선에서 치료 그룹에 대해 267.0 ng/ml (28.8 ng/ml의 최소 혈장 PLP 농도; 1270.0 ng/ml의 최대 혈장 PLP 농도)였다 (표 3). 혈장 PLP 농도는 대조군 그룹에 대한 140.0의 변화에 비교하여 아스포타제 알파로 치료된 환자에 대한 -254.5의 기준선으로부터의 통계적으로 상당한 중앙 변화에 의해 나타난 바와 같이, 아스포타제 알파로 치료의 6개월 후 감소하였다 (도 1B). 기준선으로부터 PLP 농도에서 중앙 변화에 대한 P-값은 대조군 그룹에 치료 그룹을 비교한 정확한 윌콕슨 순위 합계 테스트에 기반하여 0.0364였다. 2개의 상이한 투약량 그룹에 대한 아스포타제 알파로 치료 6개월 후 혈장 PLP 농도의 분석은 다음과 같은 기준선으로부터 중앙 변화가 있었다는 것을 나타냈다: -298.60으로 다음으로 치료된 환자에 대한 변화; 0.3 mg/kg/1일 아스포타제 알파 및 -254.50으로 다음으로 치료된 환자에 대한 변화; 0.5 mg/kg/1일 아스포타제 알파 (표 5, 대조군 그룹에 각각의 치료 그룹을 비교한 정확한 윌콕슨 순위 합계 테스트에 기반한 P-값; 추정 및 정확한 신뢰 구간은 치료 그룹과 대조군 그룹 사이의 분포에서 위치 전이에 대한 Hodges-Lehmann-Sen 방법으로부터의 것이다).

표 5. 6개월 동안 아스포타제 알파로 치료 후 소아 개시 HPP가 있는 성인에 대한 PLP 농도의 통계적인 분석

통계	대조군 그룹(N=3)	아스포타제 알파0.3 mg/kg/1일(N=4)	아스포타제 알파0.5 mg/kg/1일(N=5)	조합된 아스포타제 알파(N=9)
n	3	4	5	9
평균 (SD)	123.60 (231.037)	-301.30 (186.482)	-383.72 (492.195)	-347.09 (368.857)
95% CI	(-450.33, 697.53)	(-598.03, -4.57)	(-994.86, 227.42)	(-630.62, -63.56)
중앙	140.00	-298.60	-254.50	-254.50
최소, 최대	-115.2, 346.0	-486.4, -121.6	-1236.2, -17.2	-1236.2, -17.2
P-값		0.0571	0.1429	0.0364
추정치		-419.40	-394.50	-394.50
95% CI		(NA, NA)	(-1582.20, 98.00)	(-1121.00, -6.40)

<sup>a</sup>대조군 그룹에 각각의 치료 그룹을 비교한 정확한 윌콕슨 순위 합계 테스트에 기반한 P-값. <sup>b</sup>추정 및 정확한 신뢰 구간은 치료 그룹과 대조군 그룹 사이의 분포에서 위치 전이에 대한 Hodges-Lehmann-Sen 방법으로부터의 것이다.

[0192]

[0193]

모든 후속적인 측정에 대해, 혈장 PPi 및 PLP 농도는, 대조군 그룹이 6개월의 초기 단계 후 아스포타제 알파로 치료를 받았기 때문에 각각의 시점 (아스포타제 알파 치료의 6개월, 1년, 2년, 3년, 4년, 5년, 및 6년)에서 치료 그룹과 대조군 그룹에 대해 조합되었다. 혈장 PPi 농도에서의 감소는 아스포타제 알파로 치료의 확장 단계 전반에 걸쳐 지속되었다 (도 2). 중앙 혈장 PPi 농도는 아스포타제 알파로 치료 6개월 후 5.53 μM (2.15 μM의 최소 혈장 PPi 농도; 8.20 μM의 최대 혈장 PPi 농도)로부터 3.30 μM (0.75 μM의 최소 혈장 PPi 농도; 5.02 μM의 최대 혈장 PPi 농도)로 줄었다. 중앙 PPi 농도는 1년에서 3.74 μM (1.62 μM의 최소 혈장 PPi 농도; 5.40 μM의 최대 혈장 PPi 농도)이었고; 중앙 PPi 농도는 2년에서 2.49 μM (1.32 μM의 최소 혈장 PPi 농도;

10.90  $\mu\text{M}$ 의 최대 혈장 PPi 농도)이었고; 중앙 PPi 농도는 3년에서 2.09  $\mu\text{M}$  (1.24  $\mu\text{M}$ 의 최소 혈장 PPi 농도; 2.94  $\mu\text{M}$ 의 최대 혈장 PPi 농도)이었고; 중앙 PPi 농도는 4년에서 2.49  $\mu\text{M}$  (1.09  $\mu\text{M}$ 의 최소 혈장 PPi 농도; 4.52  $\mu\text{M}$ 의 최대 혈장 PPi 농도)이었고; 중앙 PPi 농도는 5년에서 2.2  $\mu\text{M}$  (0.92  $\mu\text{M}$ 의 최소 혈장 PPi 농도; 5.36  $\mu\text{M}$ 의 최대 혈장 PPi 농도)이었고; 그리고 중앙 PPi 농도는 5년에서 2.60  $\mu\text{M}$  (1.95  $\mu\text{M}$ 의 최소 혈장 PPi 농도; 4.84  $\mu\text{M}$ 의 최대 혈장 PPi 농도)이었다. 샘플 크기는 6개월에서 9명 HPP 소아-개시 성인, 1년 내지 5년에 걸쳐 12명 HPP 소아-개시 성인, 그리고 6년에서 3명 HPP 소아-개시 성인이었다.

[0194] 마찬가지로, 혈장 PLP 농도에서의 감소는 아스포타제 알파로 치료의 확장 단계에 걸쳐 지속되었다 (도 3). 중앙 혈장 PLP 농도는 아스포타제 알파로 치료 6개월 후 267.0 ng/ml (28.8 ng/ml의 최소 혈장 PLP 농도; 1270.0 ng/ml의 최대 혈장 PLP 농도)로부터 21.6 ng/ml (2.5 ng/ml의 최소 혈장 PLP 농도; 141.0 ng/ml의 최대 혈장 농도)로 줄었다. 중앙 PLP 농도는 1년에서 65.1 ng/ml (15.9 ng/ml의 최소 혈장 PLP 농도; 367.0 ng/ml의 최대 혈장 PLP 농도)이었고; 중앙 PLP 농도는 2년에서 20.1 ng/ml (2.7 ng/ml의 최소 혈장 PLP 농도; 45.7 ng/ml의 최대 혈장 PLP 농도)이었고; 중앙 PLP 농도는 3년에서 14.0 ng/ml (2.5 ng/ml의 최소 혈장 PLP 농도; 36.2 ng/ml의 최대 혈장 PLP 농도)이었고; 중앙 PLP 농도는 4년에서 12.0 ng/ml (2.5 ng/ml의 최소 혈장 PLP 농도; 38.4 ng/ml의 최대 혈장 PLP 농도)이었고; 중앙 PLP 농도는 5년에서 7.8 ng/ml (2.5 ng/ml의 최소 혈장 PLP 농도; 29.5 ng/ml의 최대 혈장 PLP 농도)이었고; 그리고 중앙 PLP 농도는 6년에서 6.0 ng/ml (4.7 ng/ml의 최소 혈장 PLP 농도; 15.1 ng/ml의 최대 혈장 PLP 농도)이었다. 샘플 크기는 6개월 및 1년 에서 9명 HPP 소아-개시 성인, 2년 내지 5년에 걸쳐 12명 HPP 소아-개시 성인, 그리고 6년에서 3명 HPP 소아-개시 성인이었다.

[0195] **실시예 3.6분 걷기 테스트 (6MWT)로 평가된 성인 소아-개시 HPP 환자의 신체 기능 및 걷기 능력에서의 개선**

[0196] HPP 소아-개시 환자의 신체 기능 및 걷기 능력은 6분 걷기 테스트 (6MWT)로 평가되었다. 아스포타제 알파로 치료된 환자는 기준선에서 6분 내 315.0미터의 평균 걷기 거리 (223.0의 최소 거리, 540.0의 최대 거리)로부터 아스포타제 알파로 치료의 1년 후 6분 내 421.5미터의 평균 걷기 거리 (204.0의 최소 거리, 640.0의 최대 거리)로 개선되었다. 그에 반해서, 미치료된 대조군 그룹은 기준선에서 6분 내 401.0미터의 평균 걷기 거리 (6.0의 최소 거리, 440.0의 최대 거리)로부터 아스포타제 알파로 치료의 6개월 후 6분 내 355.0미터의 평균 걷기 거리 (13.0의 최소 거리, 420.0의 최대 거리)로 개선되지 않았다.

[0197] 아스포타제 알파로 치료의 1년 후 기준선으로부터의 평균 변화는 6분 내 걸은 88.0미터의 거리인 반면, 대조군 그룹에서 기준선으로부터의 중앙 변화는 치료 없이 6개월 후 6분 내 걸은 -20.0미터였다 (표 6). 이 변화는 기준선에서 전체 6분을 걸을 수 없는 대조군 그룹에서의 3명 환자를 포함한다. 치료된 그룹에 대한 6MWT에서 기준선으로부터의 평균 변화는 기준선에서 예상된 6MWT 값의 62.8% (42.4%의 최소 예상된 6MWT 값, 예상된 6MWT 최대 값 101.3%)로부터 아스포타제 알파로 치료 1년 후 예상된 6MWT 값의 85.0% (31.1%의 최소 예상된 6MWT 값, 121.3%의 최대 예상된 6MWT 값)로의 증가로 17.6%였다. 그에 반해서, 미치료된 대조군 그룹에 대한 6MWT에서 기준선으로부터의 평균 변화는 기준선에서 예상된 6MWT 값의 85.8% (79.1%의 최소 예상된 6MWT 값, 예상된 6MWT 최대 값 92.4%)로부터 아스포타제 알파로 치료 1년 후 예상된 6MWT 값의 79.6% (70.4%의 최소 예상된 6MWT 값, 88.7%의 최대 예상된 6MWT 값)로의 감소로 -6.2였다. 추가로, 대조군과 아스포타제 알파-치료된 소아-개시 HPP 환자 사이의 6개월에서 예상된 6MWT 값 퍼센트의 기준선으로부터의 변화는 통계적으로 상당하였다 ( $p=0.04$ ). 따라서, 아스포타제로 치료의 1년 후 HPP 환자는 걷기 능력에서 통계적으로 상당한 개선을 나타낸 반면, 대조군 그룹 환자의 걷기 능력은 악화했거나 또는 개선되지 않았다.

표 6. 6개월 동안 아스포타제 알파로 치료 후 소아 개시 HPP가 있는 성인에 대한 6분 내 걸은 거리

	미치료된 대조군		병용 치료	
	미터 (n=3)	예상된 % (n=2)	미터 <sup>a</sup> (n=9)	예상된 % <sup>b</sup> (n=8)
기준선	401.0 (6.0, 440.0)	85.8 (79.1, 92.4)	315.0 (223.0, 540.0)	62.8 (42.4, 101.3)
후속 조치 (대조군: 6개월; 치료됨: 1년)	355.0 (13.0, 420.0)	79.6 (70.4, 88.7)	421.5 (204.0, 640.0)	85.0 (31.1, 121.3)
기준선으로부터 평균 변화	-20.0 (-46.0, 7.0)	-6.2 (-8.7, -3.7)	88.0 (-123.0, 197.0)	17.6 (-23.1, 29.8)

<sup>a</sup> 1년에서 데이터로 n=12. <sup>b</sup> 1년에서 데이터로 n=10 및 기준선으로부터 변화에 대한 데이터로 n=9.

[0198]

- [0199] 기준선 후 6MWT 값에 대해, 6MWT 값은, 대조군 그룹이 6개월의 초기 단계 후 아스포타제 알파로 치료를 받았기 때문에 각각의 시점 (아스포타제 알파 치료의 1년, 2년, 3년, 4년, 5년, 및 6년)에서 치료 그룹 및 대조군 그룹에 대해 조합되었다. 6MWT에서의 변화는 기준선에서 62.9%의 예상된 6MWT 값 (42.4%의 최소 예상된 6MWT 값, 101.3%의 예상된 6MWT 최대 값; n=8)으로부터 아스포타제 알파로 치료의 6개월 후 80.8%의 예상된 6MWT 값 (46.0%의 최소 예상된 6MWT 값, 109.0%의 최대 예상된 6MWT 값; n=8)으로의 증가를 제시했다 (도 4). 6MWT 값에서의 증가는 1년 후 85%의 예상된 6MWT 값 (31.1%의 최소 예상된 6MWT 값; 121.3%의 최대 예상된 6MWT 값; n=10); 2년 후 91.8%의 예상된 6MWT 값 (63.3%의 최소 예상된 6MWT 값; 120.8%의 최대 예상된 6MWT 값; n=9); 3년 후 93.5%의 예상된 6MWT 값 (64.7%의 최소 예상된 6MWT 값; 121.6%의 최대 예상된 6MWT 값; n=8); 4년 후 91.7%의 예상된 6MWT 값 (59.0%의 최소 예상된 6MWT 값; 133.4%의 최대 예상된 6MWT 값; n=8); 및 5년 후 85.1%의 예상된 6MWT 값 (61.5%의 최소 예상된 6MWT 값; 137.4%의 최대 예상된 6MWT 값; n=8)에서의 아스포타제 알파로 치료 전반에 걸쳐 지속되었다. 요약하면, 아스포타제 알파로 치료된 HPP가 있는 환자의 6MWT 값은 기준선에서 76%의 예상된 6MWT 값으로부터, 6개월까지 동일한 연령 및 키의 건강한 대상체의 정상 범위 이내인 80.8%의 예상된 6MWT 값으로 개선되었다. 6MWT 값에서의 개선은 아스포타제 알파로 치료의 4년 전반에 걸쳐 지속되었다.
- [0200] **실시예 4. 운동 능력의 Bruininks-Oseretsky 테스트, 제2 판 (BOT-2)으로 평가된 성인 소아-개시 HPP 환자의 신체 기능에서의 개선**
- [0201] HPP 환자의 신체 기능 및 손상은 달리기 속도 및 민첩성 테스트 그리고 운동 능력의 Bruininks-Oseretsky 테스트, 제2판 (BOT-2)의 체력 테스트로 평가되었다. 다음 환자의 달리기 속도 및 민첩성을 평가하기 위한 BOT-2 테스트, 즉 HPP 환자에 대해 하기를 포함한다: 50 발 왕복 달리기, 평균대 위를 옆으로 걷기, 및 1 및 2 다리로 사이드 홉. HPP 환자의 체력을 평가하기 위한 BOT-2 테스트는 하기를 포함했다: 싯-업, v-업, 제자리 멀리뛰기, 월릿, 및 푸시-업. BOT-2 속도 및 민첩성 총 점수 및 BOT-2 체력 총 점수는 그 다음 매년 간격 (기준선, 6개월, 1년, 2년, 3년, 4년, 5년, 및 6년)에 대해 BOT-2 테스트당 수여된 점수의 합으로부터 결정되었다. 기준선 후 BOT-2 점수에 대해, BOT-2 점수는, 대조군 그룹이 6개월의 초기 단계 후 아스포타제 알파로 치료를 받았기 때문에 각각의 시점 (아스포타제 알파 치료의 6개월, 1년, 2년, 3년, 4년, 5년, 및 6년)에서 치료 그룹 및 대조군 그룹에 대해 조합되었다.
- [0202] BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 총 점수는 아스포타제 알파로 치료의 6개월 후 기준선에서 6의 중앙 BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 총 점수 (0의 최소 BOT-2 점수; 27의 최대 BOT-2 점수; n=9)로부터 6개월에서 10.5 (5의 최소 BOT-2 점수; 27의 최대 BOT-2 점수; n=8)로 개선되었다 (도 5). 중앙 BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 총 점수에서의 개선은 아스포타제 알파로 치료의 확장 단계 전반에 걸쳐 1년에서 9.0의 중앙 BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 총 점수 (4의 최소 BOT-2 점수; 35의 최대 점수; n=11); 2년에서 10.0의 중앙 BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 총 점수 (3의 최소 BOT-2 점수; 33의 최대 점수; n=11); 3년에서 10.0의 중앙 BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 총 점수 (4의 최소 BOT-2 점수; 30의 최대 점수; n=10); 4년에서 9의 중앙 BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 총 점수 (4의 최소 BOT-2 점수; 31의 최대 점수; n=11); 및 5년에서 8.0의 중앙 BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 총 점수 (0의 최소 BOT-2 점수; 35의 최대 점수; n=9)로 지속되었다. BOT-2 체력 총 점수는 아스포타제 알파로 치료의 6개월 후 기준선에서 12의 중앙 BOT-2 체력 총 점수 (2의 최소 BOT-2 점수; 30의 최대 점수; n=5)로부터 6개월에서 14 (8의 최소 BOT-2 점수; 35의 최대 점수; n=5)로 개선되었다 (도 6).
- [0203] **실시예 5. 아스포타제 알파의 투여 후 성인 소아-개시 HPP 환자의 뼈 무기화에서의 개선**
- [0204] 이중-에너지 X-선 흡광분석법 (DXA)을 대퇴부 목, 요추 척추, 및 전신에 대해 미치료된 대조군 환자에 대해서 기준선 및 6개월에 그리고 아스포타제 알파로 치료된 환자에 대해서 기준선 및 1년에 수행되었다. 소아-개시 HPP가 있는 성인에서, 치료된 환자는 아스포타제 알파 투여의 6개월 후 요추 척추 뼈 무기질 밀도 (BMD)에서 기준선으로부터 증가를 나타냈다. 요추 척추 BMD에서 통계적으로 유의미한 증가가 아스포타제 알파로 치료의 6개월 후 관측되었다 (표 7).

**표 7. 12개월 동안 아스포타제 알파로 치료 후 기준선에서 소아 개시 HPP가 있는 성인에 대한 요추 척추 뼈 무기질 밀도**

	미치료된 대조군 그룹 (n=3)	병용 치료 (n=9)
<b>요추 척추 뼈 무기질 밀도(g/cm<sup>2</sup>)</b>		
기준선	1.0947 (0.39910)	1.1853 (0.22806)
후속 조치 (6개월)	1.1127 (0.37064)	1.2128 (0.21789)
기준선으로부터 평균 변화	0.0180 (0.02858)	0.0262 (0.01861)
기준선으로부터 평균 변화에 대한 95% 신뢰 구간	(-0.053, 0.089)	(0.011, 0.042)

[0205]

[0206]

뼈 생검이 또한 골모양 용적과 두께 (표 8) 및 무기화 지체 시간 (표 9)을 결정하기 위해 미치료된 대조군 환자에 대해 기준선 및 6개월에서 그리고 아스포타제 알파로 치료된 환자에 대해 기준선 및 1년에서 수행되었다. 골모양 용적/ 뼈 용적 (%) 및 골모양 두께 (μm)에서 통계적으로 상당한 감소가 아스포타제 알파로 치료의 1년 후에 관측되었다. 이 시험은 DXA 시험보다 상당히 더 침습성이었다.

**표 8: 12개월 동안 아스포타제 알파로 치료 후 기준선에서 소아 개시 HPP가 있는 성인에 대한 골모양 용적/뼈 용적 및 골모양 두께**

	미치료된 대조군 그룹 (n=3)	병용 치료(n=9)
<b>골모양 용적/ 뼈 용적 (%)</b>		
기준선	9.2 (4.1)	7.6 (4.2)
후속 조치 (대조군: 6개월; 치료됨: 1년)	9.4 (3.9)	5.4 (4.5)
기준선으로부터 평균 변화	0.2 (3.2)	-3.8 (-0.5)
기준선으로부터 평균 변화에 대한 95% 신뢰 구간	(-7.7, 8.1)	(-3.8, -0.5)
<b>골모양 두께 (μm)</b>		
기준선	11.2 (0.6)	10.2 (5.1)
후속 조치 (대조군: 6개월; 치료됨: 1년)	9.0 (1.4)	8.3 (4.8)
기준선으로부터 평균 변화	-2.2 (2.0)	-1.8 (1.9)
기준선으로부터 평균 변화에 대한 95% 신뢰 구간	(-7.1, 2.8)	(-3.3, -0.4)

[0207]

[0208]

기준선에서, 무기화 지체 시간은, 비록 이것이 큰 정도의 환자간 가변성을 포함하였지만, 모든 HPP 환자에 대해 장기화되었다. 이러한 가변성은 이러한 유형의 조직형태학적 측정 및 시험에 대해 기대된다. 1년 동안 아스포타제 알파로 치료 후, 무기화 지체 시간은 기준선으로부터 6개월에서 65일의 평균 변화를 갖는 미치료된 대조군 그룹에 비하여 기준선으로부터 -696일의 평균 변화를 갖는 치료 그룹에서 감소되었다. 이들 결과는 소아-개시 성인 HPP 환자에서 아스포타제 알파의 투여는 뼈 무기화를 촉진한다는 것을 보여준다.

표 9: 12개월 동안 아스포타제 알파로 치료 후 기준선에서 소아 개시 HPP가 있는 성인에 대한 무기화 지체 시간

	미치료된 대조군 그룹(n=3)	병용 치료 (n=9)
무기화 지체 시간 (일)		
기준선	456 (261), 2	964 (1212), 6
후속 조치 (대조군: 6개월; 치료됨: 1년)	369 (264), 3	436 (486), 7
기준선으로부터 평균 변화	65 (270), 2	-696 (1069), 6
기준선으로부터 평균 변화에 대한 95% 신뢰 구간	(-1506,1460)	(-1818, 426)

[0209]

[0210]

**실시예 6. 아스포타제 알파로 HPP 청소년 및 성인의 치료의 연구 설계**

[0211]

약 13세 내지 약 65세의 HPP가 있는 청소년 및 성인이 sALP (아스포타제 알파; 도 7)로 치료의 효능, 안전성, 및 내성을 결정하기 위한 연구에 참여하였다. 6개월 동안 아스포타제 알파로 치료의 초기 단계 동안, 총 19명 환자가 무작위 추출되어 피하 투여를 통한 0.3 mg/kg/1일 (2.1 mg/kg/주; n=7), 피하 투여를 통한 0.5 mg/kg/1일 (3.5 mg/kg/주; n=6)의 투약량 또는 대조군 그룹에서 무 치료 (n=6)로 아스포타제 알파를 투여 받았다 (도 8). 6개월의 초기 단계 연구에 이어, 치료 및 대조군 그룹 환자 양자는 피하 투여를 통한 0.5 mg/kg/1일 (3.5 mg/kg/주)의 투약량으로 아스포타제 알파로 치료받았다. 처음 6개월의 확장 단계 후, 용량은 프로토콜 수정 하에서 모든 환자에 대해 6일/주 동안 1 mg/kg/1일 (6 mg/kg/주)로 증가되었다. 연구 포함 및 제외 기준은 표 10에 기재되어 있다. HPP 질환-관련된 이력을 포함하여, HPP 청소년 및 성인에 대한 환자 인구통계 및 기준선 특성은 표 11에 요약되어 있다.

표 10. 아스포타제 알파로 치료된 HPP가 있는 청소년 및 성인의 연구에 대한 핵심 포함 및 제외 기준

핵심 포함 기준	핵심 제외 기준
<ul style="list-style-type: none"> <li>• ≥13 내지 ≤65세</li> <li>• 하기에 기반한 임의의 연령에서 개시를 갖는, HPP의 미리 확립된 임상 진단:             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 환자 연령에 대해 조정된, 낮은 혈청 알칼리성 포스파타제</li> <li>- 높은 피리독살-5'-포스페이트 PLP (≥2× 정상인 상한치)<sup>a</sup></li> <li>- 골격 방사선사진 상의 골감소증 또는 골연화증의 증거<sup>b</sup></li> </ul> </li> <li>• 뼈 생검 상의 골연화증 (무기화 지체 시간 Z-점수 ≥+ 2)<sup>c</sup></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 낮은 혈청 칼슘 또는 포스페이트</li> <li>• 낮은 혈청 25(OH) 비타민 D (&lt;20 ng/mL)<sup>d</sup></li> <li>• 높은 혈청 크레아티닌 또는 부갑상선 호르몬 (PTH) 또는 6개월 이내에 PTH로 치료</li> <li>• 연구 개시의 2년 이내 (임의의 시간의 길이 동안) 또는 임의의 시간에서 &gt;2년 동안 비스포스포네이트의 사용<sup>e</sup></li> </ul>

<sup>a</sup>PLP 수준의 결정 이전 ≥1 주 동안 투여된 비타민 B<sub>6</sub> 없음.

<sup>b</sup>뼈 생검에 의해 확인된 골연화증

<sup>c</sup>치료는 생검이 판독될 때까지 보류되지 않았지만, 모든 환자는 골연화증을 갖는 것으로 생검에 의해 확인되었다.

<sup>d</sup>낮은 수준에 기인하여 분별되지 못한 환자는 조사자의 재량으로 보충 후 재분별될 수 있었다.

<sup>e</sup>이전에 비스포스포네이트 사용이 허용된 환자는 정상 또는 상승된 범위 이내로 혈청

C-테로렙타이드 및 소변 N-테로렙타이드 또는 데옥시피리미디놀린 수준을 가져야 한다.

표 11. 아스포타제 알파로 치료된 HPP가 있는 청소년 및 성인에 대한 인구통계 및 기준선 특성

	전체적 <sup>a</sup> (N=19)	일차 치료 기간그룹 배정	
		대조군 그룹 (n=6)	아스포타제 알파 치료 그룹 <sup>b</sup> (n=13)
<b>인구통계</b>			
등록 시 연령, y, 중앙 (최소, 최대)	<b>53 (13, 66)</b>	21 (13, 58)	55 (14, 66)
등록 시 연령 카테고리			
청소년 (연령 13-<18 y)	<b>6 (32)</b>	3 (50)	3 (23)
성인 (연령 ≥18 y)	<b>13 (68)</b>	3 (50)	10 (77)
증상 개시 시 연령, y, 중앙 (최소, 최대)	<b>2.0 (0, 36)</b>	0.9 (0.2, 4)	2.0 (0, 36)
증상 개시 시 연령 카테고리, n (%)	<b>18 (95)</b>	6 (100)	12 (92)
<18 y	<b>1 (5)<sup>c</sup></b>	0 (0)	1 (8) <sup>c</sup>
≥18 y			
여성, n (%)	<b>12 (63)</b>	2 (33)	10 (77)
백인	<b>18 (95)</b>	5 (83)	13 (100)

[0212]

HPP-특이적 병력			
골절 있는 환자, n (%)	<b>18 (95)</b>	6 (100)	12 (92)
골절의 수, 중앙 (최소, 최대)	<b>6.0 (1, 30)</b>	5.0 (1, 8)	9.5 (1, 30)
뼈 통증 중증도, n (%)			
활성 한계	<b>18 (95)</b>	5 (83)	13 (100)
통증 약물 요함	<b>16 (84)</b>	5 (83)	11 (85)
근육 이상, n (%)			
약화	<b>17 (90)</b>	5 (83)	12 (92)
통증	<b>14 (74)</b>	4 (67)	10 (77)
관절 이상, n (%)			
통증	<b>17 (90)</b>	5 (83)	12 (92)
팽윤	<b>7 (37)</b>	2 (33)	5 (39)
흔치 않은 보행, n (%)	<b>15 (79)</b>	4 (67)	11 (85)
보행용 보조 장비, n (%)	<b>5 (26)</b>	2 (33)	3 (23)
두개유합증, n (%)	<b>3 (16)</b>	0	3 (23)
비영구 치아의 미성숙한 손실, n (%)	<b>16 (84)</b>	5 (83)	11 (85)
성인 치아의 손실, n (%)	<b>8 (42)</b>	1 (17)	7 (54)
남은 성인 치아, 중앙 (최소, 최대)	<b>24 (0, 30)</b>	26 (0, 28)	23 (0, 30)
고칼슘혈증, n (%)	<b>6 (32)</b>	3 (50)	3 (23)
과인산염혈증, n (%)	<b>6 (32)</b>	2 (33)	4 (31)
통풍, n (%)	<b>5 (26)</b>	2 (33)	3 (23)
신장결석, n (%)	<b>4 (21)</b>	2 (33)	2 (15)

<sup>a</sup>모든 환자가 확장 단계에서 치료를 받기 때문에 조합됨.

<sup>b</sup>분석을 위해 풀링된 아스포타제 알파 치료 그룹.

<sup>c</sup>성인 HPP를 갖는 것으로 초기에 분류된 일 환자는 소아기에 HPP의 징후 및 증상을 가졌던 것으로 추후 결정되었다.

ALP=알칼리성 포스파타제; HPP=저포스파타제증.

[0213]

[0214]

아스포타제 알파로 HPP 청소년 및 성인의 치료를 평가하기 위해 확장 단계 동안 사용된 매트릭스는 하기를 포함했다: 1) ALP 활성을 평가하기 위한 환자 혈장 샘플에서 무기 파이로포스페이트 (PPi) 및 피리독살 5' -포스페이트 (PLP) 농도에서의 변화; 2) 걷기 능력을 평가하기 위한 6분 걷기 테스트 (6MWT) 값; 3) 신체 기능을 평가하기 위한 운동 능력의 Bruininks-Oseretsky 테스트, 제2 판 (BOT-2) 점수; 4) 강도를 평가하기 위한 휴대용 동적측정 (HHD); 5) 장애를 평가하기 위한 하지 기능적 척도 (LEFS); 및 6) 통증을 평가하기 위한 간결한 통증 목록-단형 (BPI-SF).

[0215]

효능 분석은 모든 무작위화된 환자를 포함한 치료 목적 모집단의 완전 분석 세트에 대해 수행되었고; 모든 환자는 이들이 무작위 추출되는 치료를 받았다. 그룹 비교는 초기 치료 기간에서 풀링된 아스포타제 알파 치료 그룹과 대조군 그룹 사이에 이루어졌다. 분석은 또한 최대 5년 아스포타제 알파에 노출의 기간까지 수행되었다; 대조군 그룹에서의 환자에 대해, 아스포타제 알파 치료는 6개월 후 확장 단계의 개시에서 시작하였다. 기준선으로부터 6개월째까지 PPi 및 PLP의 혈장 농도에서 변화의 결과 측정을 위해, 풀링된 아스포타제 알파 치료 그룹과 대조군 그룹 사이의 비교가 0.05의 2-면 알파를 사용하여 각각의 파라미터에 대한 정확한 윌콕슨 순위-합계 테스트를 사용하여 이루어졌다; 누락 값은 이월된 최종 관찰을 사용하여 귀속되었다. 6MWT에 대해, 연령, 성별, 및 키에 기초하여 걸은 정상적인 예상된 거리의 퍼센트 정의된, 백분율 (%) 예상된 값은 환자가 기준선에서 전체 6분 걸은 경우 계산되었다.

[0216]

**실시예 7. HPP 성인 및 청소년에게 아스포타제 알파의 투여 후 PPi 및 PLP 농도에서 중앙 감소**

[0217]

HPP 청소년 및 성인으로부터 수집된 혈장 샘플에서 ALP 활성은 하기 문헌에 기재된 바와 같이 ALP 기질 PPi 및 PLP의 농도를 정량함에 의해 평가되었다: Whyte 등, 1995 (*J. Clin. Invest.* 95(4): 1440-1445). 6개월 후 대조군 그룹에 비하여 아스포타제 알파로 치료된 청소년 및 성인 HPP 환자의 PPi (-2.2 μM) 및 PLP (-254.5 ng/ml) 혈장 농도 둘 모두에서 보다 큰 변화가 있었다 (각각, 도 9A 및 9B). 그룹 간의 차이는 혈장 PLP (P=0.0285)에서의 변화에 대해서는 통계적으로 상당하였지만 혈장 PPi (P=0.0715)에서의 변화에 대해서는 그렇

지 않았다. 높은 기준선 PPi 농도 (12.1  $\mu\text{M}$ )를 갖는 대조군 그룹에서의 1 환자를 배제한 사후 감수성 분석은 대조군 그룹과 비교하여 아스포타제 알파 그룹에서 6개월째에서 혈장 PPi 농도에서 통계적으로 상당한 감소를 나타냈다 ( $P=0.0044$ ). 청소년 및 성인 HPP 환자 혈장 PPi 및 PLP 농도에서 중앙 감소는 아스포타제 알파 치료의 5년에 걸쳐 유지되었다 (각각, 도 10A 및 10B).

[0218] **실시예 8. 6분 걷기 테스트 (6MWT)로 평가된 청소년 및 성인 HPP 환자의 신체 기능 및 걷기 능력에서의 개선**

[0219] HPP 청소년 및 성인의 신체 기능 및 걷기 능력은 6분 걷기 테스트 (6MWT)로 평가되었다. 기준선 후 6MWT 값에 대해, 6MWT 값은 대조군 그룹이 스위칭되고 초기 6개월 단계 후 아스포타제 알파로 치료를 받기 시작하기 때문에 각각의 시점 (아스포타제 알파 치료의 1년, 2년, 3년, 4년, 및 5년)에서 치료 그룹 및 대조군 그룹에 대해 조합되었다. 최초 대조군 그룹은 6개월 후 치료된 그룹에서 아스포타제 알파로 치료를 개시했다. 모든 분석을 위한 기준선은 환자가 첫 번째 용량의 아스포타제 알파를 투여 받기 전 마지막 평가였다. 예상된 6MWT 값은 환자가 전체 6분을 걸은 경우에만 계산되었다. 대조군 그룹에 초기에 배정된 3명 환자는 이들 환자가 신체적 및/또는 인지 손상에 기인하여 기준선에서 전체 6분을 걸을 수 없었기 때문에 % 예상된 분석에 포함되지 않았다. 기준선 측정에서, 19명 중 5명 환자가 보조 보행 장치를 사용하였다 ( $n=3$ , 아스포타제 알파 그룹;  $n=2$ , 대조군 그룹).

[0220] 아스포타제 알파로 치료된 청소년 및 성인 HPP 환자는 치료 개시 시에 355미터 (10미터의 최소 거리; 620미터의 최대 거리)로부터 아스포타제 알파로 치료의 6개월 후에 450미터 (280미터의 최소 거리; 707미터의 최대 거리)로 개선되었다 (도 11A). 마찬가지로, 중앙 % 예상된 6MWT 걸은 거리는 기준선에서 76% 예상된 거리 (최소 42%, 최대 101%)에서 아스포타제 알파로 치료의 6개월 후 85% (최소 29%, 최대 109%)로 증가했다 (도 11B). 6MWT 걸은 거리 및 % 예상된 6MWT 걸은 거리에서의 개선은 아스포타제 알파로 치료의 5년에 걸쳐 지속되었다. 아스포타제 알파로 치료의 2년 후, 보조 보행 장치를 사용한 모든 5명 환자가 개선되었다: 1명은 휠체어에서 목발로, 1명은 유모차에서 지팡이로, 1명은 바퀴 있는 유모차에서 독립적인 보행으로, 2명은 지팡이에서 독립적인 보행으로 진보했다.

[0221] 사후 분석이 또한 수행되어 아스포타제 알파로 치료 전 후 청소년 HPP 환자 ( $n=4$ ) 및 소아-개시 HPP가 있는 성인 ( $n=9$ )에 대한 6MWT 결과를 평가하였다. 6MWT의 시험-재시험 신뢰성은 기준선에 비하여 스크리닝 시점에서 걸은 6MWT 거리 사이의 피어슨 상관 계수 ( $r$ )를 계산함에 의해 평가되었고, 양측  $P$  값이 계산되었다 (정확한 테스트 귀무가설:  $r=0$ ). 시험-재시험 신뢰성은 약 13 내지 약 17세의 청소년 및 약 18세 이상의 성인에 대해 별도로 분석되었다. 기준선에 비하여 스크리닝 시점에서 걸은 거리 사이의 피어슨 상관 계수 ( $r$ )는 청소년 HPP 환자에 대해 0.81 ( $P=0.1250$ ) (도 12A) 및 성인 소아-개시 HPP 환자에 대해 0.94 ( $P=0.0001$ ) (도 12B)였다. 청소년 HPP 환자 ( $n=4$ ) 및 소아-개시 HPP가 있는 성인 ( $n=9$ )의 6MWT에 대한 최소 임상적으로 중요한 차이 (MCID)는 스크리닝 시점 및 기준선 6MWT 데이터에 대해 적용된 분포-기반 방법을 사용하여 계산되었다. 현행 사후 분석은 측정 (SEM)의 표준 오차 및 1/3 표준 편차 (SD) 분포-기반 방법론을 사용하여 MCID를 평가했다. MCID의 가장 보존적 평가는 스크리닝 시점 및 기준선에서 6MWT를 완료한 소아-개시 HPP가 있는 청소년에 대해 43미터 (SEM 방법;  $n=4$ ) 및 성인에 대해 31미터 (SD 방법;  $n=9$ )였다.

[0222] **실시예 9. 운동 능력의 Bruininks-Oseretsky 테스트, 제2 판 (BOT-2)으로 평가된 청소년 및 성인 HPP 환자의 신체 기능에서의 개선**

[0223] HPP 청소년 및 성인의 신체 기능 및 손상은 운동 능력의 Bruininks-Oseretsky 테스트, 제2판 (BOT-2)의 달리기 속도 및 민첩성 테스트 및 강도 테스트로 평가되었다. HPP 환자의 달리기 속도 및 민첩성을 평가하기 위한 BOT-2 테스트는 50발 왕복 달리기, 평균대 위를 옆으로 걷기, 및 1- 및 2-다리로 사이드 홉을 포함했다. HPP 환자의 강도를 평가하기 위한 BOT-2 테스트는 깃-업, v-업, 제자리 멀리뛰기, 월 깃, 및 푸시-업을 포함했다. BOT-2 속도 및 민첩성 총 점수 및 BOT-2 체력 총 점수는 그 다음 매번 간격 (기준선, 6개월, 1년, 2년, 3년, 4년, 및 5년)에 대한 BOT-2 테스트당 수여된 점수의 합계로부터 결정되었다. 기준선 후 BOT-2 점수에 대해, BOT-2 점수는 대조군 그룹이 6개월의 초기 단계 후 아스포타제 알파로 치료를 받기 때문에 각각의 시점 (아스포타제 알파 치료의 6개월, 1년, 2년, 3년, 4년, 및 5년)에서 치료 그룹 및 대조군 그룹에 대해 조합되었다. HPP가 있는 성인 및 청소년에 대한 중앙 BOT-2 달리기 속도 및 민첩성 총 점수는 기준선에서 6.5 (최소 0, 최대 39)였고 아스포타제 알파로 치료의 5년 후 4.0 (최소 5, 최대 18)까지 개선되었다 (도 13). 중앙 BOT-2 체력 총 점수는 치료 개시에서 13.5 (최소 0, 최대 33)였고 아스포타제 알파로 치료의 5년 후 3.5 (최소 -9, 최대 9)까지 개선되었다 (도 13).

[0224] **실시예 10. 포켓용 동적측정 (HHD)으로 평가된 청소년 및 성인 HPP 환자의 파지 및 근육 강도에서의 개선**

- [0225] HPP 청소년 및 성인의 과지 및 근육 강도는 포켓용 동적측정 (HHD)을 사용하여 평가되었다. 하기 양측 근육 그룹이 HHD의 적용에 의해 시험되었다: 약력, 무릎 굴근, 무릎 신근, 고관절 굴근, 고관절 신근, 및 고관절 외전근. 강도는 파운드로 보고되었다. 측정은 파운드 (힘)로 평가되고, 뉴턴 (N)으로 전환되고, 토크는 팔다리 길이를 사용하여 뉴턴 미터 (NM)로 계산되었다. 토크는 16세 미만의 환자에서 연령, 성별, 및 체중에 기반하여 % 예상된 HHD 점수를 결정하기 위해 사용되었고 힘은 성인에서 % 예상된 HHD 점수 비교를 위해 사용되었다.
- [0226] HPP 청소년 및 성인 환자 (n = 13)에 대해 예상된 HHD 고관절 외전 %에 대한 중앙 값은 기준선에서 45.60%였다 (최소 9.1%, 최대 126.2%). 고관절의 근위 근육에서의 강도에서 개선은 아스포타제 알파로 치료의 24주 후 아스포타제 알파로 치료된 HPP 환자에서 관측되었다. 기준선으로부터 24주째까지의 % 예상된 값 (우세한 면)에서의 중앙 변화는 고관절 외전에 대해 대조군 그룹에서의 6.70% (최소 -7.1%, 최대 12.0%)와 비교하여 조합된 아스포타제 알파 치료 그룹에서 11.10% (최소 -25.7%, 최대 20.4%)였다. 기준선으로부터 24주째까지의 % 예상된 값 (우세한 면)에서의 중앙 변화는 고관절 신장에 대해 대조군 그룹에서의 1.90% (최소 15.0%, 최대 11.2%)와 비교하여 조합된 아스포타제 알파 치료 그룹에서 7.95% (최소 12.6%, 최대 19.5%)였다.
- [0227] 아스포타제 알파로 치료된 청소년 및 성인 HPP 환자는 48주 (11.00% 예상된 중앙 변화 (최소 -15.0, 최대 30.5%)), 96주 (11.95% 예상된 중앙 변화 (최소 -14.0%, 최대 47.2%)), 144주 (17.05% 예상된 중앙 변화 (최소 -6.7%, 최대 55.5%)), 192주 (19.45% 예상된 중앙 변화 (최소 -24.2%, 최대 94.7%)), 및 240주 (9.80% 예상된 중앙 변화 (최소 -7.2%, 최대 155.2%))에서 아스포타제 알파로 치료 후 고관절 외전에서 개선을 나타냈다. 아스포타제 알파로 치료된 청소년 및 성인 HPP 환자는 24주 (6.20% 예상된 중앙 변화 (최소 -12.6%, 최대 19.5%)), 48주 (4.90% 예상된 중앙 변화 (최소 1.7%, 최대 27.7%)), 96주 (6.75% 예상된 중앙 변화 (최소 -24.1%, 최대 31.2%)), 144주 (15.40% 예상된 중앙 변화 (최소 -15.6%, 최대 45.2%)), 192주 (17.10% 예상된 중앙 변화 (최소 -3.2%, 최대 50.2%)), 및 240주 (12.40% 예상된 중앙 변화 (최소 -9.2%, 최대 45.1%))에서 아스포타제 알파로 치료 후 고관절 신장에서 개선을 나타냈다. 아스포타제 알파로 치료된 청소년 및 성인 HPP 환자는 아스포타제 알파로 치료의 240주 후 고관절 외전에서 개선을 나타냈다. 청소년 및 성인 HPP 환자는 16.05 % 예상된 무릎 신장에서의 중앙 변화 (최소 7.1%, 최대 40.7%) 및 14.30% 예상된 무릎 구부리기에서의 중앙 변화 (최소 2.1%, 최대 68.0%))를 가졌다.
- [0228] **실시예 11. 하지 기능적 척도 (LEFS)로 평가된 청소년 및 성인 HPP 환자의 하지에서 기능적 장애에서의 개선**
- [0229] HPP 청소년 및 성인의 하지에서 기능적 장애는 하지 기능적 척도 (LEFS)를 사용하여 평가되었다. 허가 받은 물리적 치료사는 인터뷰 형식으로 HPP 환자의 LEFS 평가를 적용했다. 총 LEFS 점수는 0 내지 80의 범위로 더 높은 점수는 더 나은 하지 기능화를 나타낸다. 기준선 평균 및 중앙 LEFS 점수는 조합된 아스포타제 알파 그룹에서보다 대조군 그룹에서 훨씬 낮았다. 미치료된 대조군 그룹에 비교하여 청소년 및 성인 HPP 환자의 조합된 아스포타제 알파 치료 그룹의 LEFS 점수에서의 개선이 있었다 (표 12). 기준선으로부터 24주째까지의 임상적으로 유의미한 개선 ( $\geq 9$  점 증가)은 아스포타제 알파로 치료된 HPP 환자의 13명 중 4명 (30.8%)에 비교하여 대조군 그룹에서는 5명 중 1명 환자 (20.0%)에서 관측되었다.

표 12. 기준선으로부터 아스포타제 알파 치료의 24주째까지 HPP 환자의 하지 기능적 척도 (LEFS) 기능적 장애 점수에서의 개선

방문	파라미터	대조군 그룹 (N = 6)	아스포타제 알파 0.3 mg/kg (N = 7)	아스포타제 알파 0.5 mg/kg (N = 6)	조합된 아스포타제 알파 (N = 13/19)
기준선	n	5	7	6	13
	평균 (SD)	35.8 (4.66)	40.0 (25.04)	41.7 (15.62)	40.8 (20.39)
	중앙	35.0	28.0	36.0	35.0
	최소, 최대	30, 41	17, 78	29, 70	17, 78
24주째	n	4	7	6	13
	평균 (SD)	42.0 (12.73)	52.3 (21.05)	44.8 (21.07)	48.8 (20.53)
	중앙	37.5	58.0	47.5	53.0
	최소, 최대	33, 60	22, 78	22, 77	22, 78
기준선 으로부터 24주째 까지의 변화	n	4	7	6	13
	평균 (SD)	5.5 (13.70)	12.3 (17.13)	3.2 (13.09)	8.1 (15.51)
	중앙	2.0	5.0	5.5	5.0
	최소, 최대	-7, 25	-2, 40	-15, 23	-15, 40
	p-값*	□	□	□	0.7248

\*대조군 그룹에 대해 치료 그룹을 비교하는 정확한 윌콕슨 순위 합계 테스트에 기반된 P-값.

[0230]

[0231]

아스포타제 알파로 치료 동안, 기준선 LEFS 점수 데이터로 18명 중 14명 환자 (77.8%)가 기준선으로부터 아스포타제 알파로 치료의 5년까지 총 LEFS 점수에서 증가 (개선)를 가졌다. 또한, 총 18명 중 8명 환자 (44.4%)가 기준선 LEFS 점수에 비교하여 그것의 최종 평가에서 LEFS 점수에서의 임상적으로 유의미한 개선 ( $\geq 9$  점)을 실증했다. 모든 18명 환자에 대한 기준선으로부터 아스포타제 알파에 마지막 전체적인 노출까지의 평균 변화는 7.5 (13.33의 표준 편차)였다.

[0232]

**실시에 12. 간결한 통증 목록-단형 (BPI-SF)으로 평가된 청소년 및 성인 HPP 환자에서의 통증**

[0233]

HPP 청소년 및 성인 통증은 간결한 통증 목록-단형 (BPI-SF)을 사용하여 평가되었다. HPP 청소년 및 성인의 BPI-SF 점수는 11가지 통증 평가의 복합체이다. HPP 청소년 및 성인의 조합된 BPI-SF 점수에서 기준선과 24주째 사이에서 평균 증가는 없었다 (표 13). BPI-SF 점수에서 기준선으로부터 24주째까지의 평균 및 중앙 변화는 아스포타제 알파로 치료된 HPP 청소년 및 성인과 대조군 그룹 사이에서 유사하였다.

표 13. 기준선으로부터 아스포타제 알파 치료의 24주째까지의 HPP 환자의 간결한 통증 목록-단형 (BPI-SF) 점수에서의 무 변화

방문	파라미터	대조군 그룹 (N = 6)	아스포타제 알파 0.3 mg/kg (N = 7)	아스포타제 알파 0.5 mg/kg (N = 6)	조합된 아스포타제 알파 (N = 13/19)
기준선	n	6	7	6	13
	평균 (SD)	12.3 (7.17)	10.3 (10.78)	17.8 (8.18)	13.8 (10.07)
	중앙	12.0	8.0	20.0	15.0
	최소, 최대	5, 25	0, 30	3, 25	0, 30
24주째	n	4	7	6	13
	평균 (SD)	10.3 (6.60)	6.0 (7.16)	15.2 (8.82)	10.2 (8.98)
	중앙	10.0	3.0	16.0	7.0
	최소, 최대	3, 18	0, 21	4, 26	0, 26
기준선으로 부터 24주째까지 의 변화	n	4	7	6	13
	평균 (SD)	-4.0 (6.00)	-4.3 (7.04)	-2.7 (6.38)	-3.5 (6.51)
	중앙	-3.0	-3.0	-0.5	-2.0
	최소, 최대	-11, 1	-17, 3	-11, 4	-17, 4
	p-값*	□	□	□	0.7315

\*대조군 그룹에 대해 치료 그룹을 비교하는 정확한 윌콕슨 순위 합계 테스트에 기반된 P-값.

[0234]

[0235]

5년 동안 아스포타제 알파로 치료 동안, HPP 청소년 및 성인과 대조군 환자에 대한 BPI-SF 점수는 초기 24주 치료 기간 동안 관측된 것들과 일치하였다. 아스포타제 알파로 치료의 96주 (N = 19) 및 144주 (N = 17)까지, 중앙 개선은 다음과 같았다: -4.0 (범위: -13, 11) 및 -4.0 (범위: -24, 9)으로 각각 아스포타제 알파로 치료된 HPP 청소년 및 성인과 대조군 환자에 대한 것임. 아스포타제 알파로 치료의 192주 (N = 15) 및 240주 (N = 16)에서, 중앙 개선은 다음과 같았다: -3.0 (범위: -20, 8) 및 -3.5 (범위: -20, 5)로 각각 HPP 청소년 및 성인과 대조군 환자에 대한 것임. 따라서, HPP 청소년 및 성인은 약 5년에 걸친 아스포타제 알파로 치료 후 통증 증가를 나타내지 않았다.

[0236]

**실시예 13. 아스포타제 알파로 장기간 치료에 대한 내성**

[0237]

일반적으로, 아스포타제 알파로 치료는 주사 부위 반응 (ISR) 및 관절통으로 구성되는 최대 유해 사례 (AE)로 HPP가 있는 성인 및 청소년에서 잘-용인되었다. 안전성 평가는 ISR 및 주사 연관된 반응 (IAR)을 포함한 유해 사례 (AE)의 지속적 모니터링을 포함했다. ISR은 투여 부위에 국소화되었고 아스포타제 알파 치료의 개시 후 임의의 시점에서 발생하였다. IAR은 아스포타제 알파 투여 후 3시간 이내에 발생한 전신 징후, 증상, 또는 발견 (예를 들어, 일반화된 두드러기 또는 가려움, 저혈압, 또는 호흡 곤란)을 포함했다.

[0238]

아스포타제 알파 치료 동안 사망은 발생하지 않았다. 단 하나의 환자만 주사 부위 과민증 및 아나필락토이드 반응 (각각 1 에피소드)으로 인해 철회되었다. 모든 환자는 연구 동안 적어도 하나의 치료-발생 유해 사례 (TEAE)를 경험하였다; 대부분의 TEAE는 강도가 온건 (864/1145 (75%)) 또는 중간 정도 (229/1145 (20%))였다. 관절통, 주사 부위 홍반, 말단에서의 통증, 요통, 주사 부위 혈종, 뼈 통증, 주사 부위 변색, 안과적 석회화, 근골격 통증, 주변 부종, 현기증, 발 곱질, 주사 부위 반응, 관절 팽윤, 상부 기도 감염, 두통, 주사 부위 통증, 비인두염, 기침, 전도, 주사 부위 위축증, 주사 부위 가려움증, 절차적 통증, 부비강염, 피로, 주사 부위 팽윤, 주사 부위 비대, 메스꺼움, 구강 인두 통증, 골 관절염, 지각 이상증, 및 외상후 통증의 TEAE가 3HPP 환자 초과에서 보고되었다 (표 14).

표 14. 아스포타제 알파로 치료 동안 3명 초과 HPP 환자에서 발생하는 치료-발생 유해 사례 (TEAE)

TEAE (바람직한 용어)	환자, n (%) N=19
관절통	13 (68)
주사 부위 홍반	13 (68)
말단에서의 통증	12 (63)
요통	10 (53)
주사 부위 혈종	10 (53)
뼈 통증	9 (47)
주사 부위 변색	9 (47)
안과적 석회화 <sup>a</sup>	9 (47)
근 골격통증	8 (42)
주변 부종	8 (42)
현기증	7 (37)
발 골절	7 (37)
주사 부위 반응	7 (37)
관절 팽윤	7 (37)
상부 기도 감염	7 (37)
두통	6 (32)
주사 부위 통증	6 (32)
비인두염	6 (32)
기침	5 (26)
전도	5 (26)
주사 부위 위축증	5 (26)
주사 부위 가려움증	5 (26)
절차적 통증	5 (26)
부비강염	5 (26)
피로	4 (21)
주사 부위 팽윤	4 (21)
주사 부위 비대	4 (21)
메스꺼움	4 (21)
구강 인두 통증	4 (21)
골 관절염	4 (21)
지각 이상증	4 (21)
외상후 통증	4 (21)

<sup>a</sup>TEAE는 바람직한 용어들 "침착 눈" 및 "결막 침착물"을 포함한다.

[0239]

[0240]

가장 흔한 TEAE는 ISR (385/1145 (34%))로, 모든 환자에서 발생하였다; 가장 흔한 ISR (ISR의  $\geq 5\%$ )은 홍반 (121/385 (31%)), 변색 (66/385 (17%)), 비전형적 ISR (56/385 (15%)), 혈종 (33/385 (9%)), 통증 (26/385 (7%)), 및 가려움증 (20/385 (5%))이었다. 총 2명 환자는 과민증 IAR (1명 환자에서 경구 지각감퇴 및 오한; 1명 환자에서 아나필락토이드 반응)로 분류된 TEAES를 경험하여, 모두 강도에서 중간 정도로 간주되었다. 총 29개 치료-발생 심각한 AE (SAE)는 9명 환자에 대해 보고되었고, 2명 환자에 대해 보고된 8개 SAE는 아스포타제 알파 투여에 관련되는 것으로 조사자에 의해 평가되었다 (1명 환자에서 경구 지각감퇴, 오한, 말단에서의 통증, 및 두통 및 1명 환자에서 과민증 반응 및 아나필락토이드 반응). 전반적으로, 아스포타제 알파의 투여는 HPP 청소년 및 성인에서 잘-용인되었다.

[0241]

**실시에 14. 소아 HPP가 있는 성인에서 아스포타제 알파의 페이스 2a, 무작위화된, 다중중심, 개방라벨, 용량-범위 연구로부터의 약력학적 결과**

[0242]

HPP가 있는 6-12세 연령인 환자와 청소년 및 성인에서의 연구에서, 아스포타제 알파는 순환하는 PPi 및 PLP 수준을 감소시키고 기능적 결과를 개선하였다. 아스포타제 알파는 2.0 mg/kg을 3회/주 또는 1.0 mg/kg을 6회/주의 권고된 용량으로 소아-개시 HPP가 있는 모든 연령의 환자에서 HPP의 치료를 위해 미국, 유럽, 및 일본에서 승인되었다. 미국에서, 이 용량은 치료하는 의사가 효능이 불충분한 것으로 여기는 경우 3.0 mg/kg을 3회/주로 증가시킬 수 있다.

- [0243] 아스포타제 알파의 약리학, 약동학, 및 안전성/내성은 2.0 mg/kg 3회/주의 현재 권고된 용량을 일괄하여 다루는 6-배 범위에 걸친 3 용량에서 소아-개시 HPP가 있는 성인에서 평가되었다. 약리학 및 안전성/내성이 측정되었다.
- [0244] 자격있는 환자는 하기 중하나이상 및 HPP-관련된 골격 비정상성의 문서로 기록된 이력에 의해 표시된 바와 같이, 소아-개시 HPP 및 HPP의 진단을 갖는  $\geq 18$ 세 연령의 남성 및 비-임신한 여성을 포함했다: 문서로 기록된 TNSALP 유전자 (*ALPL*) 돌연변이(들), 스크리닝에서 정상인 상한치 이상의 PLP 및 연령-조정된 정상 범위 이하의 혈청 알칼리성 포스파타제 활성 (PLP에 대한 이력적 결과는 환자 적격성을 결정하기 위해 사용될 수 있고; 혈장 PLP에 대한 기준은 피리독신 치료를 받은 환자에 대해서는 해당 없었다), 스크리닝에서 혈장 PPi  $\geq 3.9 \mu\text{M}$ , 및 연구 구 진입 3년 이내에 아스포타제 알파 치료 없음.
- [0245] 연구 설계 및 치료는 13-주, 페이스 2a, 다중중심, 무작위화된, 개방라벨, 용량-반응 연구였다. 스크리닝 후, 초기 런-인 기간은 기질 분석을 위한 샘플링을 허용했다. 환자는 그 다음 제1 주 동안 피하로 (SC) 투여된 단일 용량의 아스포타제 알파 (0.5, 2.0, 또는 3.0 mg/kg)에 대해 1:1:1로 무작위화되었다. 환자는 제2 주 동안 아스포타제 알파를 투여 받지 않았다. 아스포타제 알파는 그 다음 제3 주로부터 제9 주까지 0.5, 2.0, 또는 3.0 mg/kg SC 3회/주 (1.5, 6.0, 또는 9.0 mg/kg/wk에 동등함)의 용량으로 투여되었다 (도 14).
- [0246] 측정된 약력학적 결과는 기준선으로부터 사전-세 번째 용량 (트리프) 제9 주까지 혈장 PPi (일차) 및 PLP (이차)에서의 변화가 있었고, 여기서 기준선은 아스포타제 알파로 제1 SC 주사 이전의 모든 평가의 평균으로 정의되었다. 혈장 PPi 및 PLP의 측정을 위한 혈액 샘플은 클리닉에서 스크리닝, 런-인, 제1 주, 제9 주, 및 제13 주 동안 수집되었다. 제2-8 주 및 제10-12 주 동안 혈액 샘플은 클리닉 또는 가정에서 수집될 수 있다. 측정된 다른 이차 결과는 안전성/내성 및 약동학적 파라미터를 포함했다. 약력학적 및 안전성/내성 결과가 보고된다.
- [0247] 일차 가설은 집단 간에 혈장 PPi에서 기준선으로부터의 변화에서의 차이가 사전-세 번째 용량 제9 주에서 제0과 다른지 여부를 시험했다. 다중도에 대해 제어하기 위해, 고정된 서열 시험 절차를 사용하여 먼저 3.0과 0.5 mg/kg 집단 사이의 차이를 결정하고, 단지 이것이 통계적으로 상당한 경우에만, 그 다음 2.0과 0.5 mg/kg 집단 사이의 차이를 결정한다. 2-면 5% 유형 I 에러가 유의성 시험 ( $P < 0.05$ )을 수행한 경우에 사용되었다. 측정된 일차 결과는 0.05의 유의성 시험 수준 (양자에 대해  $P < 0.05$ )에서 양자의 비교에 대해 귀무가설이 거부된 경우 충족되었다. 주 분석은 제한된 최대 가능성 (REML)-기반 반복된 측정 혼합된 모델을 사용하여 수행되어 기준선으로부터 제9 주 (사전-세 번째 용량; 61일째)까지의 변화를 평가하였다. 이 모델은 제4 주 (22일째), 제5 주 (29일째), 제7 주 (43일째), 제8 주 (50일째), 제9 주 (57일째), 및 제9 주 (61일째)에서 획득된 투여전 샘플로부터의 결과를 사용했다. 제3 주 (15일째) 투여전 시점은 이것이 단일 용량에 이어서 2-주 세정 기간 후 수집되었고 기준선에서의 것에 유사한 값을 생성할 것으로 기대되기 때문에 포함되지 않았다. 프로토콜에 따라, 약력학적 평가가 제6 주에서는 수집되지 않았다. 분석은 고정물에 대한 공변량, 방문의 절연적인 효과, 치료 집단, 기준선 PPi, 성별, 기준선 체중 그룹 ( $\geq$  중앙 대  $<$  중앙), 및 연구 약물 로트 배정을 포함했다. 비구조적인 공변이 구조를 사용하여 환자-내 에러를 모델링하고, Kenward-Roger 근사치를 사용하여 분모 자유도를 추정했다.
- [0248] 선별된 35명 환자 중, 27명이 등록하고 연구를 완료했다. 인구통계적 및 기준선 질환 특성은 표 15에 요약되어 있다. 3개 용량 집단 중에서, 중위 연령은 45.0세이고 (범위:18-77) 대부분의 환자는 백인 (96%) 및 여성 (59%)이었다.

표 15. 인구통계적 및 기준선 HPP 특성

	AA 0.5 mg/kg 집단 (n=8)	AA 2.0 mg/kg 집단 (n=10)	AA 3.0 mg/kg 집단 (n=9)	총 AA (N=27)
등록 시 연령, 세, 중앙 (범위)	44.5 (18-64)	42.5 (24-77)	55.0 (24-69)	45.0 (18-77)
성별, n (%)	3 (38)	4 (40)	4 (44)	11 (41)
남성	5 (63)	6 (60)	5 (56)	16 (59)
인종, n (%)				
백인	7 (88)	10 (100)	9 (100)	26 (96)
다중	1 (13)	0	0	1 (4)
키, cm, 평균 (SD)	161 (14)	163 (7)	163 (9)	163 (10)
체중, kg, 평균 (SD)	89 (24)	73 (13)	85 (19)	82 (20)
HPP의 형태, n (%) <sup>a</sup>				
출산 전후 또는 유아	0	1 (10)	1 (11)	2 (7)
소아기	3 (38)	5 (50)	4 (44)	12 (44)
출산 전후, 유아, 또는 소아기	5 (63)	4 (40)	4 (44)	13 (48)
ALPL 유전자 돌연변이 서열, n (%) <sup>b</sup>	7 (88)	9 (90)	9 (100)	25 (93)
유전자 돌연변이 카테고리, n (%)				
동종접합성	0	1 (10)	0	1 (4)
이종접합성	2 (25)	3 (30)	4 (44)	9 (33)
화합물 이종접합성	5 (63)	5 (50)	5 (56)	15 (56)
이용불가능	1 (13)	1 (10)	0	2 (7)
스크리닝에서 HPP 진단을 위해 사용된 높은 PLP의 이력, n (%)	7 (88)	9 (90)	8 (89)	24 (89)
기준선 PPi, μM, 평균 (SD) <sup>c</sup>	5.4 (1.6)	5.3 (1.2)	5.0 (0.9)	5.2 (1.2)
기준선 PLP, ng/mL, 평균 (SD) <sup>d</sup>	309.5 (349.2)	382.1 (385.9)	229.5 (321.4)	309.7 (347.0)
기준선 ALP, U/L, 평균 (SD) <sup>e</sup>	20.1 (4.2)	20.4 (6.6)	25.6 (20.5)	22.0 (12.5)

<sup>a</sup>제1 정후/증상에서 연령의 정연적인 수집에 기반됨.

<sup>b</sup>중심 실험실에서 연구의 일부로서 수행된 유전자 돌연변이 분석.

<sup>c</sup>PPi에 대한 정상 범위: 13-18세 연령의 환자에 대해 0.75-4.78 μM 및 >18세 연령의 환자에 대해 1.00-5.82.

<sup>d</sup>PLP에 대한 정상 범위: 6-18세 연령의 환자에 대해 5.74-61.15 ng/mL 및 >18세 연령의 환자에 대해 2.81-26.70 ng/mL.

<sup>e</sup>ALP에 대한 정상 범위: 16-19세 연령의 남성 환자에 대해 60-270 U/L, >19세 연령의 남성 환자에 대해 40-120 U/L, 및 >15세 여성 환자에 대해 40-120 U/L. 분석을 위해, 18 U/L의 LLOQ 이하 값은 18 U/L로 세팅되었다.

AA=아스포타제 알파; ALP=알칼리성 포스파타제; HPP=저포스파타제증; TNSALP=조직-비특이적 알칼리성 포스파타제; PLP=피리독살 5' -포스페이트; PPi=무기 파이로포스페이트; SD=표준 편차.

[0249]

[0250]

유의차는 기준선으로부터 사전-3<sup>rd</sup> 용량 제9 주까지 PPi에서 최소 제곱 평균 (LSM) 변화들 사이에서 관측되었다 (표 16 및 도 15). 유의차는 또한 기준선으로부터 사전-3<sup>rd</sup> 용량 제9 주까지 PLP에서 LSM 변화들 사이에서 관측되었다 (표 16 및 도 16).

표 16. 기준선으로부터 사전-3<sup>rd</sup> 용량 제9 주까지 PPI 및 PLP에서 평균 변화

	AA 0.5 mg/kg 집단 (n=8) <sup>a</sup>	AA 2.0 mg/kg 집단 (n=10) <sup>a</sup>	AA 3.0 mg/kg 집단 (n=9) <sup>a</sup>
<b>PPI, <math>\mu</math>M</b>			
기준선, 평균 (SD)	5.4 (1.6)	5.3 (1.2)	5.0 (0.9)
사전-3 <sup>rd</sup> 용량 제9 주, 평균 (SD) <sup>b</sup>	3.1 (0.7)	1.9 (0.6)	1.1 (0.3) <sup>c</sup>
LSM, 기준선으로부터 변화 (SE) <sup>d</sup>	-2.6 (0.2)	-3.8 (0.2)	-4.5 (0.2)
<b>PLP, ng/mL</b>			
기준선, 평균 (SD)	309.5 (349.2)	382.1 (385.9)	229.5 (321.4)
사전-3 <sup>rd</sup> 용량 제9 주, 평균 (SD) <sup>b</sup>	40.7 (45.8)	13.0 (9.5)	4.8 (4.4)
LSM 기준선으로부터 변화 (SE) <sup>d</sup>	-304.0 (0.4)	-333.4 (8.1)	-338.0 (8.5)

<sup>a</sup>다중 투약 기간 동안 3회/주 투여된 용량.

<sup>b</sup>사전-세 번째 용량 제9 주 샘플은 61일째에 수집되었다.

<sup>c</sup>1 환자는 결과가 없었다

<sup>d</sup>주 분석 제한된 최대 가능성-기반 반복된 측정 혼합된 모델로부터의 것.

AA=아스포타제 알파; CI=신뢰 구간; LSM=최소 제곱 평균; PLP=피리독살 5'-포스페이트;

PPI=무기 파이로포스페이트; SD=표준 편차; SE=표준 오차.

[0251]

[0252]

안전성 및 내성에 관하여,  $\geq 5$  환자 전반에 걸쳐 관측된 치료-발생 유해 사례 (TEAE)가 표 17에 제시되어 있다. 예를 들어, 주사 부위 반응 (21명 환자에서 137건)은 2.0 및 3.0 mg/kg 집단에서 보다 일반적이었다. 지방이영양증이 관측되었다 (2.0 mg/kg 집단에서 1명 환자에서 2건). 이소성 석회화 (4명 환자에서 4건; 2.0 및 3.0 mg/kg 집단에서 각각 2명)가 신장 (2명 환자; 2.0 및 3.0 mg/kg 집단에서 각각 1명), 눈 (2.0 mg/kg 집단에서 1명 환자), 및 간 (3.0 mg/kg 집단에서 1명 환자)에서 관측되었다. 과민증 반응이 또한 관측되었다 (2.0 mg/kg 집단에서 1명 환자에서 4건). 전반적으로, 99% (480/485)의 TEAE는 중증도에서 온건하거나 또는 중간정도였다. 심각한 TEAE는 보고되지 않았고, 및 환자는 TEAE에 기인하여 연구를 철회하지 않았다.

표 17. ≥5 환자에서 치료-발생 유해 사례

TEAE	AA 0.5 mg/kg 집단 (n=8) <sup>a</sup>		AA 2.0 mg/kg 집단 (n=10) <sup>a</sup>		AA 3.0 mg/kg 집단 (n=9) <sup>a</sup>		전체적 (N=27)	
	사건, n	환자, n (%)	사건, n	환자, n (%)	사건, n	환자, n (%)	사건, n	환자, n (%)
말단에서의 통증	17	4 (50)	11	5 (50)	10	4 (44)	38	13 (48)
관절통	13	2 (25)	12	4 (40)	15	5 (56)	40	11 (41)
두통	10	3 (38)	9	3 (30)	7	5 (56)	26	11 (41)
피로	9	3 (38)	11	4 (40)	5	3 (33)	25	10 (37)
주사 부위 홍반	4	2 (25)	4	3 (30)	4	4 (44)	12	9 (33)
주사 부위 반응	4	1 (13)	21	3 (30)	68	4 (44)	93	8 (30)
요통	13	4 (50)	4	1 (10)	2	2 (22)	19	7 (26)
뼈 통증	3	2 (25)	3	3 (30)	3	2 (22)	9	7 (26)
홍반	4	2 (25)	7	3 (30)	2	1 (11)	13	6 (22)
주사 부위 통증	2	2 (25)	2	1 (10)	4	3 (33)	8	6 (22)
메스꺼움	3	2 (25)	2	1 (10)	2	2 (22)	7	5 (19)
상부 호흡기 감염	1	1 (13)	3	3 (30)	1	1 (11)	5	5 (19)

<sup>a</sup>다중 투약 기간 동안 3회/주 투여된 용량.  
AA=아스포타제 알파.

[0253]

[0254]

권고된 용량 (2.0 또는 3.0 mg/kg) 또는 그 이상에서 아스포타제 알파로 치료된 소아-개시 HPP가 있는 성인 환자는 권고된 용량 (0.5 mg/kg)보다 낮은 용량으로 치료된 환자에 비교하여 그것의 사전-세 번째 용량 제9 주 PPI 및 PLP 값에서 기준선으로부터 통계적으로 상당한 감소를 가졌다. 주사 부위 반응은 용량이 증가함으로 보다 빈번하였다. 달리는, 아스포타제 알파는 모든 용량에서 잘 용인되었다.

[0255]

**실시예 15. 연구 AA-HPP-208로부터 소아-개시 저포스파타제증을 갖는 성인 환자에서 아스포타제 알파의 모집단 약동학적 및 약동학적-약력학적 분석**

[0256]

본 발명자들은 소아-개시 HPP가 있는 성인 환자에서 아스포타제 알파의 PK를 기술하기 위해 비-구획적 분석 (NCA)을 사용하여 아스포타제 알파 약동학적 (PK) 파라미터를 계산하였다. 본 발명자들은 전형적인 값 및 랜덤 개별간 및 잔존 가변성을 포함한 모집단 PK 파라미터를 추정하였고, 모집단 PK 분석에서 원인불명 랜덤 가변성을 예측하는 개별-특이적 공변량 인자 (예를 들어, 체중)를 확인하였다. 본 발명자들은 아스포타제 알파 노출과 PPI 반응 사이의 모집단 약동학적-약력학적 (PKPD) 관계를 기재하였다. 추가로, 본 발명자들은 전형적인 값 및 랜덤 개별간 및 잔존 가변성을 포함한 모집단 PK-PPI 파라미터를 추정했다. 또한, 본 발명자들은 6 mg/kg/주의 권고된 용량을 지지하기 위해 소아-개시 HPP가 있는 아스포타제 알파 성인 환자에서 PK-PPI 사이의 노출-반응 (ER) 관계를 모의실험했다. 마지막으로, 본 발명자들은 비타민 B6-함유 보충물로 치료를 받지 않은 환자에서 아스포타제 알파 노출과 피리독살-50-포스페이트 (PLP) 반응 사이의 모집단 PKPD 관계를 기재했다. 이것은 PK-PLP 용량 또는 ER의 설명과 전형적인 값 및 랜덤 개별간 및 잔존 가변성의 추정을 포함한다.

[0257]

페이스 2a 연구 (프로토콜 AA-HPP-208)는 대략 13주에 걸쳐 27명 HPP 환자에서 아스포타제 알파의 3개 상승하는 다중-투약 레지멘의 무작위화된, 평행한 그룹 디자인이었다 (도 17A-17B). 본 연구는 스크리닝 기간, 단일-용량 기간 (3주), 및 다중-용량 치료 기간 (10주)으로 구성되었다. 본 연구는 0.5, 2.0 또는 3.0 mg/kg의 아스포타제 알파의 단일 용량 이어서 2주 후에 시작하는 동일한 양 3x/주의 다중 용량으로 구성되었다. 27명 개체 (집단당 대략 9명)가 연구에 포함되었고 풍부한 PK, PPI, 및 PLP 샘플링은 측정 단계 동안 최소 샘플링으로 단일 및 다중-투약 후 수행되었다.

- [0258] 개별 및 평균 PK 프로파일은 모든 3개 집단에 대해 획득되었다. 개별 PK 프로파일은 1일째 단일 투약 사건 후 (도 18A)로부터 61일째 다중 투약 사건 후 (도 18B)까지 아스포타제 알파 축적을 나타냈다. 양자 단일-용량 및 다중-용량 평균  $\pm$  SD PK 프로파일은 아스포타제 알파가 시험된 0.5 내지 3 mg/kg 용량 범위 내에서 증가된 노출로 선형 PK를 나타냈다는 것을 보여주었다 (도 19A 및 19C). 정상 상태는 아스포타제 알파 트리플 농도가 모든 3개 투약 레지멘 하에서 안정기에 일관되게 도달한 29일째 (또는 4주의 반복된 투약 후) 주위에서 도달되었다 (도 19B). 용량 보정한 평균  $\pm$  SD PK 프로파일은 아스포타제 알파 PK가 0.5 mg/kg으로부터 3.0 mg/kg으로 대략 용량-비례하여 (또는 비례 범위의 2-배 범위 이내로) 증가했다는 것을 나타냈다 (도 20A-20B).
- [0259] 농도 관찰, 투약 이력, 사건 시간, 및 공변량 인자 (연령, 키, 체중, 성별, 및 인종)를 포함한 모집단 PK 데이터가 분석을 위해 조합되고 포맷화되었다. PK 파라미터 값은 PhoenixWinNonlin v 7.0 (Certara, 미국 뉴저지주 프린스턴 소재)에서 NCA 모듈을 사용하여 추정되었다. NCA에 대한 데이터세트는 NONMEM®모집단 PKPD 데이터세트로부터 유래되었다. 농도 결과로부터 유래된 PK 파라미터는 아스포타제 알파의 용량 비례를 평가하기 위해 사용되었다. 반복된-측정 종점에 대한 모집단 PKPD 분석은 비선형 혼합된 효과 모델링 (NONMEM®) 소프트웨어, 버전 7.3 (ICON Development Solutions, MD 하노버 소재)의 자격이 있는 설치로 비선형 혼합된 효과 모델링을 통해 수행되었다.
- [0260] 이전의 모델링 연구는 아스포타제 알파가 다중-구획의 성향을 따르고, 따라서 초기 모델링은 청소능 ( $CL$ )의 관점에서 파라미터화된 1차 흡수를 갖는 2-구획 모델, 분포의 중심 용적 ( $V_2$ ), 분포의 주변 용적 ( $V_3$ ), 구획간의 청소능 ( $Q$ ), 절대적인 생체이용률 ( $F$ ), 일정한 흡수율 ( $k_a$ ), 및 피하 흡수 지체 시간 (ALAG) (ADVAN13)을 사용하여, 적절한 랜덤 효과 분포로 수행되었다는 것을 제안했다. 모델 선택은 하기를 포함한 다양한 적합도 기준에 의해 유도되었다: 진단 산포도, 적어도 2 유효 숫자로 수렴, 파라미터 추정의 타당성, 파라미터 추정의 정확성, 모델 파라미터 추정 오차 사이의 상관관계
- [0261]  $<0.95$ , 및 AIC, 주어진 최소 목적 함수 값 및 추정된 파라미터의 수. 최종 모델 파라미터 추정은 (NONMEM® \$COVARIANCE 단계로부터 획득된) 점근의 표준 오차를 포함한 추정 불확실성의 척도로 보고되었다.
- [0262] 아스포타제 알파로 이전의 모델링 연구는 또한 공변량 모델링을 유도했다. 전체 모델은 예측 변수에서의 상관관계 또는 공선형성을 피하기 위해 주의하여 구성되었다. 모델 파라미터가 추정되고, 임의의 나머지 경향의 평가는 모든 공변량 효과의 그래픽 점검에 의해 수행되었다. 파라미터의 임상 관련성에 대한 추론은 전체 모델의 얻은 파라미터 추정치와 추정 정확성의 측정치에 기반하였다. 개별 PK 파라미터가 또한 추정되었고, 정상 상태에서 투약 간격 동안 평균 농도 ( $C_{avg,ss}$ )가 계산되었다. 예측적 검사 모델 평가 단계가 최종 모델 및 파라미터의 성능을 평가하기 위해 수행되었다.
- [0263] PK-PPi 데이터 분석을 위해, 기준선으로부터의 변화의 관점에서 혈장 PPi 반응이 플롯팅되었고 노출 사분위수에 걸쳐 요약되었다. 정상 PPi 하한 ( $1.33 \mu\text{M}$ ) (LLN) 이하의 투여전 연구 일수 61일째 PPi 농도의 빈도가  $C_{avg,ss}$ 의 사분위간 범위 및 치료 집단에 의해 표로 작성되었다. 253 - 6800U/L의 범위인 아스포타제 알파  $C_{avg,ss}$ 의 개별 값이 계산되었고 이 ER 관계를 그래프로 그리고 정량적으로 평가하기 위해 사용되었다.
- [0264] 아스포타제 알파 PKPD 데이터 세트는 전체 연구 기간에 걸쳐 총 1140 혈청 아스포타제 알파 농도 및 1293 혈장 PPi 농도에 기여한 27명 환자로 구성되었다. 혈청 아스포타제 알파 관찰의 총수 중 17% 이상을 구성하는, 정량화의 한계 이하 198개 관찰이 있었다. 연구 모집단은 18 내지 77세 범위인 연령과 48.2 내지 121.3 kg 범위인 체중을 갖는 11명 남성 및 16명 여성으로 구성되었다. 환자의 다수는 백인이었다 (96.3%). 키, 성별, 연령, 및 인종은 데이터세트에 포함되었고 완성도를 위해 표의 형식으로 요약되지만 모집단 모델에서 포텐셜 공변량으로 간주되지 않았다. 분석에 사용된 약물 LOT 정보는 로트 활성, 총 시알산 함량 (TSAC) 함량, 및 배치 크기를 포함했다.
- [0265] NCA 분석은 투약의 상대적으로 긴 반감기 및 빈도가 모든 용량 수준에서 현저한 축적을 초래했다는 것을 드러냈다. 비록 모든 프로파일이 세미-로그 그래프 상에서 관찰될 때 단일지수의 하락을 나타내는 것으로 여겨지지만, 광범위한 개체간 가변성이 각각의 집단 내에서 농도 대 시간 프로파일에서 관측되었다. 노출의 추정 (투약 간격에서 최대 농도 ( $C_{max}$ ), 제로 시간으로부터 투약 간격에서 마지막 관측된 농도의 시간까지의 농도-시간 곡선 하 면적 ( $AUC_{1ast}$ ), 및 제로 시간으로부터 무한대까지의 농도-시간 곡선 하 면적 ( $AUC_{inf}$ )은 증가하는 용량으로 그리고 단일과 다중-용량 투여 사이에서 증가했다. 0.5 mg/kg 집단에서 검출의 하한 이상의 제한된 농도,  $AUC_{inf}$ 에

기인하여, 피하 투약 후 명백한 청소능 ( $CL/F$ ), 피하 투약 후 분포의 겉보기 체적 ( $V_2/F$ ), 및 말단 반감기 ( $t_{1/2}$ )은 평가가능하지 않았다.  $CL/F$  및  $V_2/F$ 의 기하 평균 추정치는 각각 2.0 mg/kg 집단에 대해 18.8 L/일 및 99.1 L였고 3.0 mg/kg 집단에 대해 22.1 L/일 및 150 L였다.  $t_{1/2}$ 의 추정치는 3.66 내지 5.54 일<sup>-1</sup>의 범위인 기하 평균 값을 가졌다. 투약 간격에서 최대 농도의 중앙 시간 ( $T_{max}$ ) 추정치는 각각 단일 및 다중 용량 집단에서 1.91 내지 3.0 및 0.747 내지 1.16일 범위였다. 아스포타제 알파 PK에서 용량 비례는 단일 및 다중-용량  $C_{max}$  값 및 단일 용량  $AUC_{inf}$  및  $AUC_{last}$  값에 대해 적용된 파워 모델의 로그 형태를 사용하여 평가되었다.

[0266] 결과는 모두에 대해 확정적이 아니지만 비-비례성이 결론지어진 단일 용량  $C_{max}$ 에 대해서는 확정적이었다. 단일 용량  $C_{max}$  파라미터에 대해, 비례를 거부하는 역치 용량 비는 7.85였다. 이들 파라미터에 대한 최대 비례 용량 비는 데이터세트에서 18.2의 최대 용량 비와 비교될 때 1.37 내지 1.69의 범위였다.

[0267] 본 발명자들의 이전 모델링 연구는 아스포타제 알파가 다중-구획의 성향을 따르고, 따라서 초기 모델링은 1차 흡수를 갖는 2-구획 모델을 사용하여 적절한 랜덤 효과 분포를 사용하여 수행되었다는 것을 제안했다. 이전의 분석으로부터 전체 공변량 모델은 다중 배치 크기가 포함되었기 때문에 상대생장으로-확장된 체중의 사전-명시된 효과,  $CL$ 에 대한 TSAC 및 항-약물 중화하는 항체 (NAb);  $V_2$ ,  $V_3$ , 및  $Q$ 에 대한 상대생장으로-확장된 체중, 및  $F$  및  $k_3$ 에 대한 공변량과 같은 제조 로트 배치 크기를 포함했다. 현행 분석을 위한 제조 로트는 단지 20K 배치 크기만을 포함하였고, 따라서 각각의 로트에 대해 관측된 원료 의약품 활성은 또한 직접적인 용량의 인자로서 모델에 포함되었지만, 이것은 추정된 공변량 효과는 아니었다. 참조 공변량 효과에 대한 PK 모델 파라미터 (70 kg, 1.7 mol/mol, 항-약물 항체의 부재, 20K 로트 크기)의 전형적인 추정치 (95% CI)는 각각  $CL/F$ , 분포의 명백한 (피하) 중심 용적 ( $V_2/F$ ), 분포의 명백한 (피하) 주변 용적 ( $V_3/F$ ), 명백한 (피하) 구획간의 청소능 ( $Q/F$ ) 및 단일 용량 흡수율 상수 (kaSD)에 대해 17.9 (13.7, 23.4) L/일, 36.6 (0.876, 1530) L, 95.7 (18.5, 496) L, 3490 (6.47, 1.88e+06) L/일 및 1.10 (0.603, 2.02) 일<sup>-1</sup>이었다. 이들 결과는 NCA로부터의 것 일치하고 그리고 이전의 분석으로부터의 것과 어느 정도 일치한다.

[0268] 아스포타제 알파 PK에 대한 공변량 인자의 효과가 또한 조사되었다.  $CL/F$ ,  $V_2/F$ ,  $V_3/F$  및  $Q/F$ 에 대한 공변량의 기대된 영향은 무효 효과와 구별할 수 있는 각각의 예측변수에 기인한 값에서  $C_{avg,ss}$ 를 계산함에 의해 설명되었다. 체중 (48.2 및 121.3 kg), TSAC (1.4 및 1.6 mol/mol)에 대한 극단적인 값 사이와 항-약물 항체의 존재 또는 부재에서, 예상된 중앙  $C_{avg,ss}$ 는 TSAC에 대해 정규화 값이 1.7인 경우 1750 U/L 내지 2769 U/L의 범위였다. 원 인불명 랜덤 가변성 (% CV)은 기본 모델  $CL/F$  (48.8 CV%) 변동 추정치에 비교될 때 최종 모델에서  $CL/F$  (43.9 퍼센트 변동 계수 (CV%))에 대해 감소되었다. 이 발견의 임상 관련성은 알려진 공변량에 대한 용량 조정은 반응 가변성에서 유의미한 감소를 초래하는 것으로 기대되지 않는다는 것이다.

[0269] 최종 모집단 PK 모델은 PK 데이터의 양호한 설명을 제공했다. 적합도 기준은 최종 모델이 관측된 데이터와 일치하였다는 것과 체계적인 바이어스가 남아있지 않다는 것을 드러냈다. 모델 평가 결과는 최종 모델의 고정 및 랜덤 효과 성분 둘 모두가 또한 관측된 데이터의 반영이었다는 증거를 제공했다.

[0270] 혈장 PPi 반응은, 비록 반응에서 광범위한 중첩이 노출 사분위수에 걸쳐 인지되었지만, 아스포타제 알파 노출을 증가함에 따라 크게 되는 경향이 있었다. 이 PPi 반응의 빈도는 2030 U/L의 중앙 아스포타제 알파  $C_{avg,ss}$  이상의 농도에서 66.7%로 안정기를 나타내어, 2030 U/L을 넘게 중앙  $C_{avg,ss}$ 를 증가시키는 것은 PPi 반응의 빈도를 증가시키는데 추가의 영향을 가지지 않는 것으로 나타난다는 것을 나타낸다.

[0271] 아스포타제 알파 PK 파라미터는 NCA를 사용하여 계산되었고 하기에 요약되어 있다: 표 18. 상대적으로 긴 반감기 및 투약의 빈도는 모든 용량 수준에서 현저한 축적을 초래했지만, 그러나  $AUC_{inf}$ ,  $CL/F$ ,  $V_2/F$ , 및  $t_{1/2}$ 은 검출의 하한 이상 제한된 농도에 기인하여 0.5mg/kg 집단에서 평가 가능하지 않았다.

표 18. PK NCA 파라미터의 요약

파라미터	아스포타제 알파0.5 mg/kg(N = 8)		아스포타제 알파2.0 mg/kg(N = 10)		아스포타제 알파3.0 mg/kg(N = 9)	
	1일째	61일째	1일째	61일째	1일째	61일째
C <sub>max</sub> (U/L)	218 (24.1)	743 (63.6)	617 (51.8)	1900 (53.6)	915 (35.3)	3600 (43.7)
t <sub>max</sub> (일)	1.91 (0.485, 3.00)	0.747 (0.00, 2.46)	2.34 (1.49, 5.04)	1.16(0.00, 2.49)	3.00(1.50, 6.04)	0.990(0.254, 1.33)
AUC <sub>last</sub> (U × 일/L)	588 (77.0)	NE	3310 (60.6)	NE	5620 (63.3)	NE
AUC <sub>inf</sub> (U × 일/L)	NE	NE	5350 (45.6)	NE	9030 (40.3)	NE
t <sub>1/2</sub> (일)	NE	5.12 (10.2)	3.66 (16.4)	4.62 (28.0)	4.69 (17.9)	5.54 (18.3)
λ <sub>z</sub> (일 <sup>-1</sup> )	NE	0.135 (10.2)	0.189 (16.4)	0.150 (28.0)	0.148 (17.9)	0.125 (18.3)
CL/F (U/L)	NE	NE	18.8 (37.2)	NE	22.1 (41.2)	NE
V <sub>z</sub> /F (L)	NE	NE	99.1 (25.9)	NE	150 (36.2)	NE
C최저치R	NE	4.15 (35.3)	NE	3.14 (65.5)	NE	4.68 (33.6)

[0272]

기하 평균 및 기하학적 CV%는 t<sub>max</sub>를 제외한 모든 파라미터에 대해 제공되었고, 여기서 중앙 및 범위가 제공되었다.

λ<sub>z</sub> = 말단 성향 속도 상수; AUC<sub>inf</sub> = 제로 시간부터 무한대까지의 농도-시간 곡선 하 면적; AUC<sub>last</sub> = 제로 시간부터 투약 간격에서 마지막 관측된 농도의 시간까지의 농도-시간 곡선 하 면적; CL/F = 피하 투약 후 명백한 청소능; C<sub>max</sub> = 투약 간격에서 최대 농도; C최저치R = 첫 번째 용량 48시간 후 농도 대 다중 투약 61일째 후에서 투여된 농도의 비; NE = 평가가능하지 않음; t<sub>1/2</sub> = 말단 반감기; t<sub>max</sub> = 투약 간격에서 최대 농도의 시간; V<sub>z</sub>/F = 피하 투약 후 분포의 겉보기 체적.

[0273]

[0274]

혈청 아스포타제 알파 농도-시간 데이터의 복잡 및 평균 플롯은, 비록 0.5 mg/kg 집단에서 농도의 큰 부분이 1 일째 투약에 따른 정량 한계 이하 (BLQ)인 데이터를 가졌지만, 증가하는 용량으로 증가하는 노출을 나타냈다. 광범위한 환자간 가변성이, 비록 모든 프로파일이 세미-로그 그래프 상에서 관찰될 때 단일지수의 하락을 나타 내는 것으로 여겨지지만, 각각의 집단 내에서 농도 대 시간 프로파일에서 관측되었다.

[0275]

노출의 추정치 (C<sub>max</sub>, AUC<sub>last</sub>, 및 AUC<sub>inf</sub>)는 증가하는 용량으로 그리고 단일과 다중-용량 투여 사이에서 증가했다. 0.5 mg/kg 집단에서 검출의 하한 이상인 제한된 농도에 기인하여, AUC<sub>inf</sub>, CL/F, V<sub>z</sub>/F, 및 t<sub>1/2</sub>은 평가 가능하지 않았다. CL/F 및 V<sub>z</sub>/F의 기하 평균 추정치는 각각 2.0 mg/kg 집단에 대해서는 18.8 L/일 및 99.1 L이고 3.0 mg/kg 집단에 대해서는 22.1 L/일 및 150 L였다. t<sub>1/2</sub>의 추정치는 3.66 내지 5.54일의 범위인 기하 평균 값을 가 졌다. 중앙 t<sub>max</sub> 추정치는 단일 및 다중-용량 집단에서 각각 1.91 내지 3.0일 및 0.747 내지 1.16일의 범위였다.

[0276]

연속적인 용량 사이에 불규칙한 시간이 주어지면 (즉 3회/주 투약이 7-일 기간에서 2번의 2일의 간격과 1번의 3일의 간격을 초래하면), 축적 비는 표준 방법으로 직접적으로 평가될 수 없다. 주당 3회 투약으로 축적의 근사 치는 첫 번째 용량 투여 48시간 후 농도 대 다중 투약 후 61일째에서 투여된 농도의 비를 계산함에 의해 평가되 었다. 이들 비의 기하 평균은 3개 집단에 걸쳐 3.14 내지 4.68의 범위였다. 전체 모델 모집단 PK 모델은 표 19 에 나타나 있다.

표 19. 전체 모델: 모집단 PK 모델 30502

PK 파라미터 (단위)	NONMEM 파라미터	추정치	95%CI*
CL/F (L/일)	exp( $\Theta_1$ )	17.9	(13.7, 23.4)
V <sub>2</sub> /F (L)	exp( $\Theta_2$ )	36.6	(0.876, 1530)
V <sub>3</sub> /F (L)	exp( $\Theta_3$ )	95.7	(18.5, 496)
Q/F (L/일)	exp( $\Theta_4$ )	3490	(6.47, 1.88e+06)
ka <sub>SD</sub> (일 <sup>-1</sup> )	exp( $\Theta_5$ )	1.10	(0.603, 2.02)
ALAG (일)	exp( $\Theta_6$ )	0.0771	(0/00939, 0.634)
ka <sub>MI</sub> (일 <sup>-1</sup> )	exp( $\Theta_7$ )	2.09	(1.14, 3.82)
CL/F~상대성장지수	$\Theta_8$	0.776 FIX	
CL/F~ADA+ /Nab-	exp( $\Theta_9$ )	1.11 FIX	
CL/F~TSAC	$\Theta_{10}$	-1.08 FIX	
IIVvar CL/F ( $\omega^2_{CL/F}$ )	$\Omega_{1,1}(n_1)$	0.176 (%CV=43.9)	(0.00, 0.472)
IIVcov CL/F, V <sub>2</sub> /F ( $\omega_{CL/F, V_2/F}$ )	$\Omega_{2,1}$	0.0253	(-0.126, 0.176)
IIVvar V <sub>2</sub> /F ( $\omega^2_{V_2/F}$ )	$\Omega_{2,2}(n_2)$	0.108 (%CV=33.7)	(0.00, 1.13)
IIVcov CL/F, V <sub>3</sub> /F ( $\omega_{CL/F, V_3/F}$ )	$\Omega_{3,1}$	0.229	(-0.00757, 0.465)
IIVcov V <sub>2</sub> /F, V <sub>3</sub> /F ( $\omega_{V_2/F, V_3/F}$ )	$\Omega_{3,2}$	-0.0295	(-0.502, 0.443)
IIVvar V <sub>3</sub> /F ( $\omega^2_{V_3/F}$ )	$\Omega_{3,3}(n_3)$	0.405 (%CV=70.6)	(0.00, 1.07)
IIVcov CL/F, k <sub>a</sub> ( $\omega_{CL/F, k_a}$ )	$\Omega_{4,1}$	0.101	(-0.118, 0.320)
IIVcov V <sub>2</sub> /F, k <sub>a</sub> ( $\omega_{V_2/F, k_a}$ )	$\Omega_{4,2}$	0.175	(-0.527, 0.876)
IIVcov V <sub>3</sub> /F, k <sub>a</sub> ( $\omega_{V_3/F, k_a}$ )	$\Omega_{4,3}$	0.104	(-0.136, 0.344)
IIVvar k <sub>a</sub> ( $\omega^2_{k_a}$ )	$\Omega_{4,4}(n_4)$	0.372 (%CV=67.1)	(0.00, 0.891)
$\Sigma_{1,1, \dots, 7}(\epsilon_1)$	$\Sigma_{1,1, \dots, 7}(\epsilon_1)$	0.0488 (SD=0.2221)	(0.0435, 0.0541)

\*표준 오차로부터 유래된 95%CI는 NONMEM \$COVARIANCE 단계로부터 수록했다  
 IIV=개별간 가변성, CV=변동 계수, SD=표준 편차

[0277]

[0278]

아스포타제 알파의 모집단 PK는 흡수 지체 시간을 갖는 1차 흡수로 2개 구획 모델에 의해 소아-개시 HPP를 갖는 성인 환자에 기재되어 있다. 하기의 전형적인 모집단 파라미터 추정치 (95% CI): 17.9 (13.7, 23.4) L/hr, 36.6 (0.876, 1530) L, 95.7

[0279]

(18.5, 496) L, 3490 (6.47, 1.88e+06) L/일 및 1.10 (0.603, 2.02) 일<sup>-1</sup>는 다음에 대해 추정되었다: CL/F,

[0280]

V<sub>2</sub>/F, V<sub>3</sub>/F, Q/F 및 ka<sub>SD</sub>, 각각. CL/F 및 V<sub>2</sub>/F의 추정치는 NCA와 모집단 분석 사이에서 일관되었다.

[0281]

모집단에서 원인불명 랜덤 가변성을 예측한 개체-특이적 공변량 인자는 CL/F, V<sub>2</sub>/F, V<sub>3</sub>/F 및 Q/F에 대한 상대생장으로-확장된 체중 효과, 및 CL/F에 대한 항체 상태 및 TSAC의 효과를 포함했다. 단일 대 다중 용량 투여의 효과가 또한 k<sub>a</sub> 상에 포함되었다.

[0282]

아스포타제 알파 노출과 PPI 반응 사이의 모집단 PKPD 관계는 예상된 C<sub>avg,ss</sub>의 변위치에 의해 표로 작성되었고 그 래프로 검사되었다. 혈장 PPI 반응은 다음이 증감함에 따라 크게 되는 경향이 있었다: 용량 및 아스포타제 알파 노출로, 비록 반응에서 광범위한 중첩은 노출 사분위수에 걸쳐 인지되었다 (도 21 및 표 20).

표 20. PK-PPi 반응:  $C_{avg,ss}$  노출 (U/L) 대 연구 61일째에 기준선 PPi ( $\mu\text{M}$ ) 반응으로부터의 변화

Cavgbin (U/L)	N	평균	중앙	최소	최대
[253,935]	7	-2.44	-2.94	-5.64	0.192
(9.35,2.03e+03]	7	-2.89	-2.35	-4.99	-0.938
(2.03e+03,2.63e+03]	6	-4.14	-4.62	-5.46	-1.85
(2.63e+03,6.8e+03]	7	-3.83	-3.64	-5.03	-2.87

N= 환자의 수, Cavgbin = 기준선 PPi 데이터로부터의 모든 변화가 그 안에 요약된  $C_{avg,ss}$  사분위간 범위,  $C_{avg,ss} = CL=F$ 의 개별 경험적 베이 추정치를 사용하고 각각의 환자에게 투여된 마지막 용량 (활성의 단위)이 7-일 투약 간격에 걸쳐 3회 투여되었다는 것을 가정하여 계산된 평균 정상 상태 아스포타제 알파 농도.

[0283]

[0284]

PPi 반응의 빈도는 2030 U/L의 중앙 아스포타제 알파  $C_{avg,ss}$  이상 농도에서 66.7%로 안정기로 나타났다 (표 21).

표 21.  $C_{avg,ss}$  사분위수에 의한 PPi < LLN: 정상 PPi < 하한의 빈도 (1.33  $\mu\text{M}$ )로 노출 사분위수에 의한 61일째 연구에 대한 것

Cavgbin (U/L)	N	빈도 (%)
[253,935]	7	0.0
(9.35,2.03e+03]	7	14.3
(2.03e+03,2.63e+03]	6	66.7
(2.63e+03,6.8e+03]	7	66.7

N= 환자의 수, Cavgbin = 기준선 PPi 데이터로부터의 모든 변화가 그 안에 요약된  $C_{avg,ss}$  사분위간 범위,  $C_{avg,ss} = CL=F$ 의 개별 경험적 베이 추정치를 사용하고 각각의 환자에게 투여된 마지막 용량 (활성의 단위)이 7-일 투약 간격에 걸쳐 3회 투여되었다는 것을 가정하여 계산된 평균 정상 상태 아스포타제 알파 농도. 연구 61일째에 투여전 PPi 농도를 사용하여 계산된 빈도.

[0285]

[0286]

AA-HPP-208 성인 환자에서 2 mg/kg x 3일/주 치료에 대한 중앙 예상된  $C_{avg,ss}$  값 (1810 U/L)은 이 역치 농도에 접근하는 반면, PPi 반응 (20%)을 달성한 환자의 빈도는 이 용량에서 성인 모집단에 대한 이전의 예측 (17.6%)과 일치한다. 집합적으로, 이들 결과는 소아 표현형을 갖는 성인 HPP 환자에서 2 mg/kg x 3일/주 투약 레지멘을 뒷받침한다.

[0287]

소아-개시 HPP가 있는 성인 환자로부터 이들 데이터는 HPP가 있는 청소년 환자에서 2 mg/kg x 3일/주 투약 레지멘의 효능을 확인한다. 연구 AA-HPP-208로부터 새로 이용가능한 용량-범위 및 PK/PD 데이터는 이전에 시험되지 않은 환자 모집단인, 성인 HPP 환자  $\geq 18$ 세에서 효과적인 투약을 나타내고 소아-개시 HPP가 있는 성인 환자가 아스포타제 알파 치료로부터 이점이 있다는 것을 확인한다.

[0288]

또한, 소아 환자 대 소아-개시 HPP가 있는 성인 환자에서 아스포타제 알파의 치료적 유효성을 확인하는 능력에서 유의 차가 있다. 예를 들어, 소아 환자에서, 아스포타제 알파 효능은 소아 환자에서 골격 변화를 평가하는 변화의 방사선사진 인상 (RGI-C) 척도를 사용하여 결정될 수 있다. RGI-C 척도는, 이것이 개방 성장 플레이트를 갖는 이들 (즉, 소아 환자)만 평가할 수 있기 때문에 HPP에 제한된다. 결과적으로, RGI-C 척도는 소아-개시 HPP가 있는 성인 환자에서 효능을 평가하기 위해 사용될 수 없다. 그럼에도 불구하고, 연구 AA-HPP-208로부터 PK/PD/효능 결과는 이들 성인 환자에서 아스포타제 알파의 치료적 유효성을 확인한다.

[0289]

마지막으로, 연구 AA-HPP-208 이전에는, 아스포타제 알파 치료가 소아-개시 HPP가 있는 성인 환자에서 잘-용인될 수 있는지 여부를 다루는 데이터는 없었다. 이들 데이터는, 비록 아스포타제 알파 요법의 부작용이 소아 환자 대 청소년 및 성인 환자 모집단에서 상이하지만, 아스포타제 알파 요법은 최소 부작용으로 둘 모두의 군에 의해 잘-용인된다는 것을 확인한다.

[0290]

**다른 구현예**

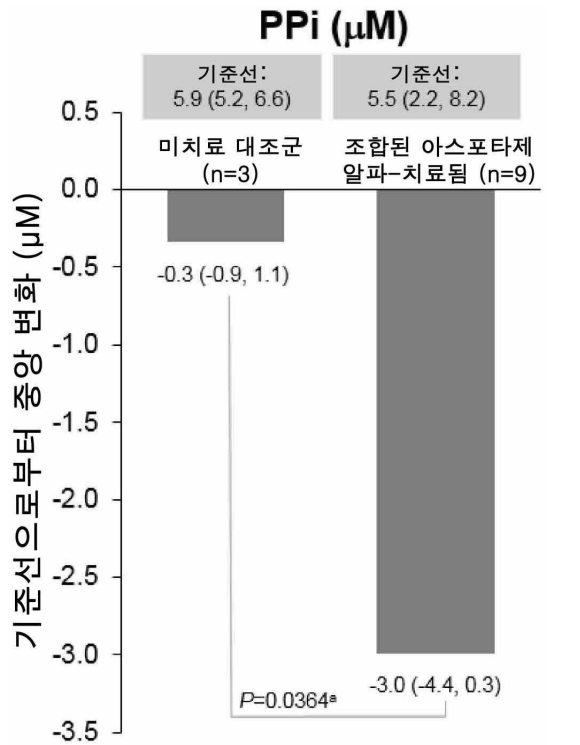
[0291]

상기 명세서에서 언급된 모든 공보, 특허, 및 특허 출원은 마치 각각의 개별 공보, 특허 또는 특허 출원이 전체적으로 참고로 편입되도록 구체적으로 그리고 개별적으로 표시된 것과 동일한 정도로 이로써 참고로 편입된다. 본 발명의 기재된 방법, 약제학적 조성물, 및 키트의 다양한 변형 및 변이는 청구된 발명의 범위 및 사상으로부터 벗어남이 없이 당해 분야의 숙련자에게 명백할 것이다. 비록 본 개시내용은 특정 구현예와 연계하여 기재되었지만, 추가의 변형이 가능하고 청구된 바와 같은 본 발명은 이러한 특정 구현예에 지나치게 제한되지 않아야

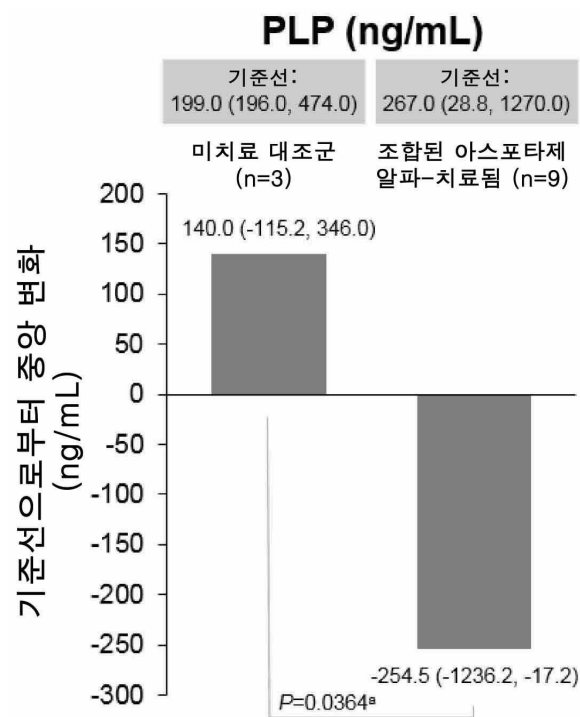
한다는 것이 이해될 것이다

도면

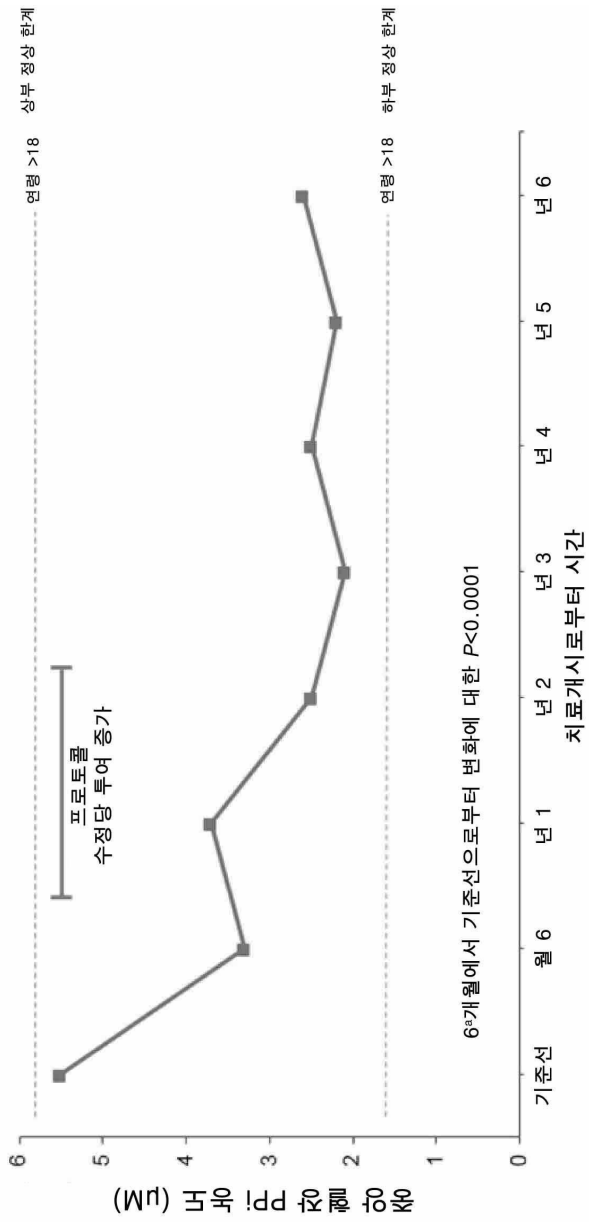
도면1a



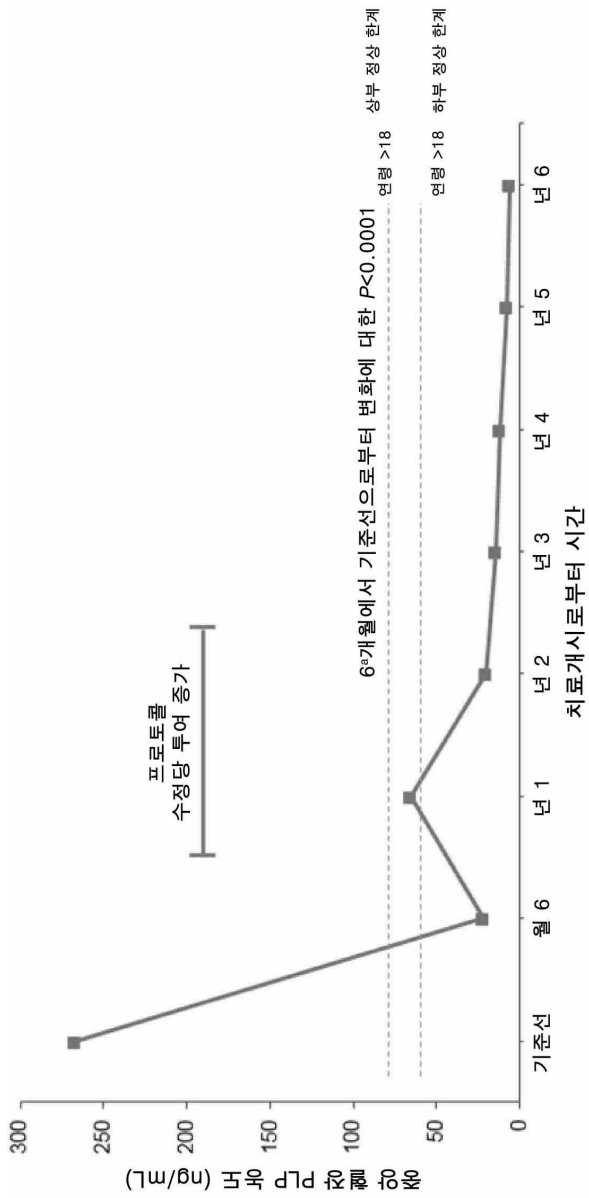
도면1b



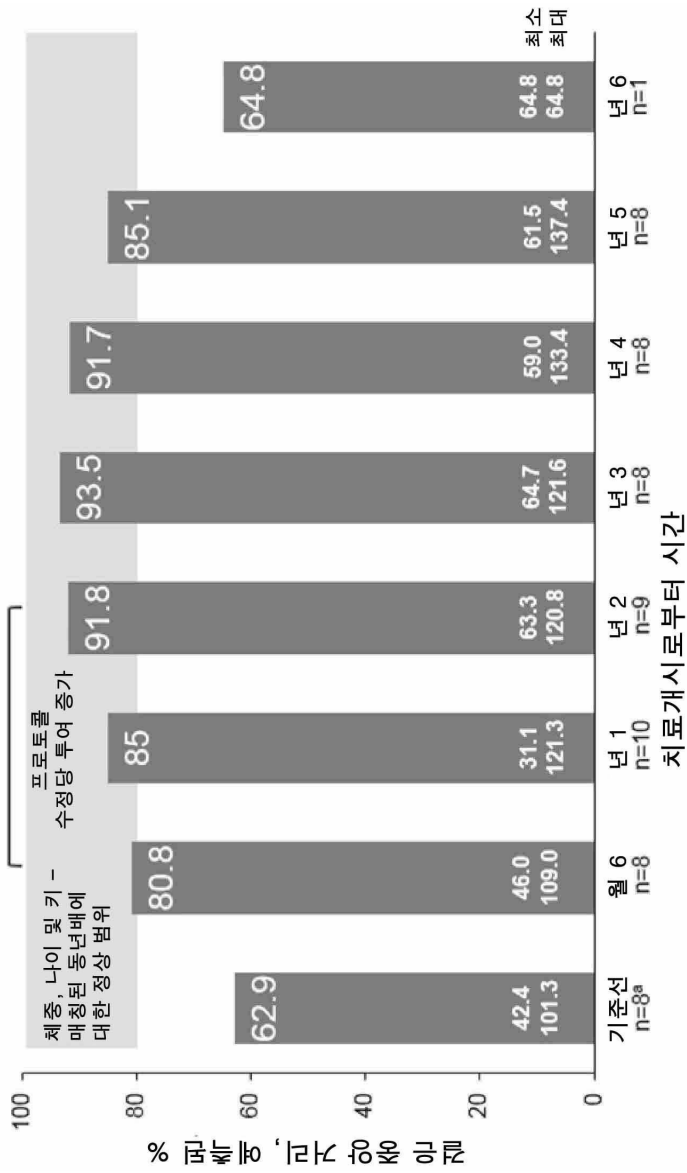
도면2



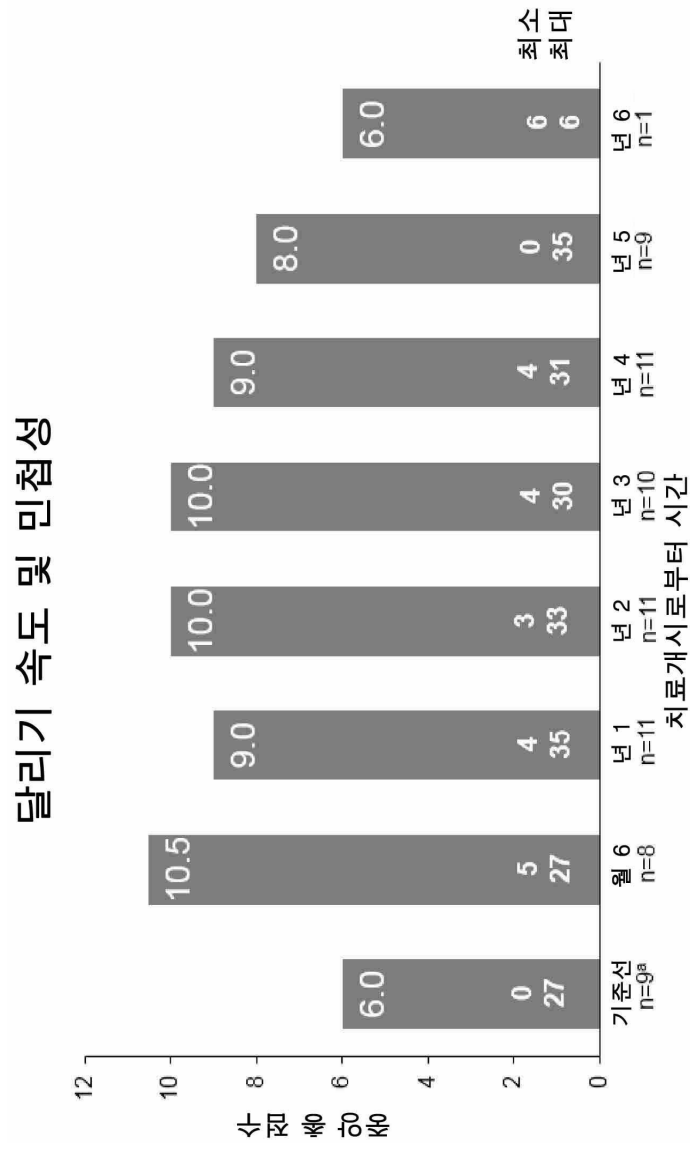
도면3



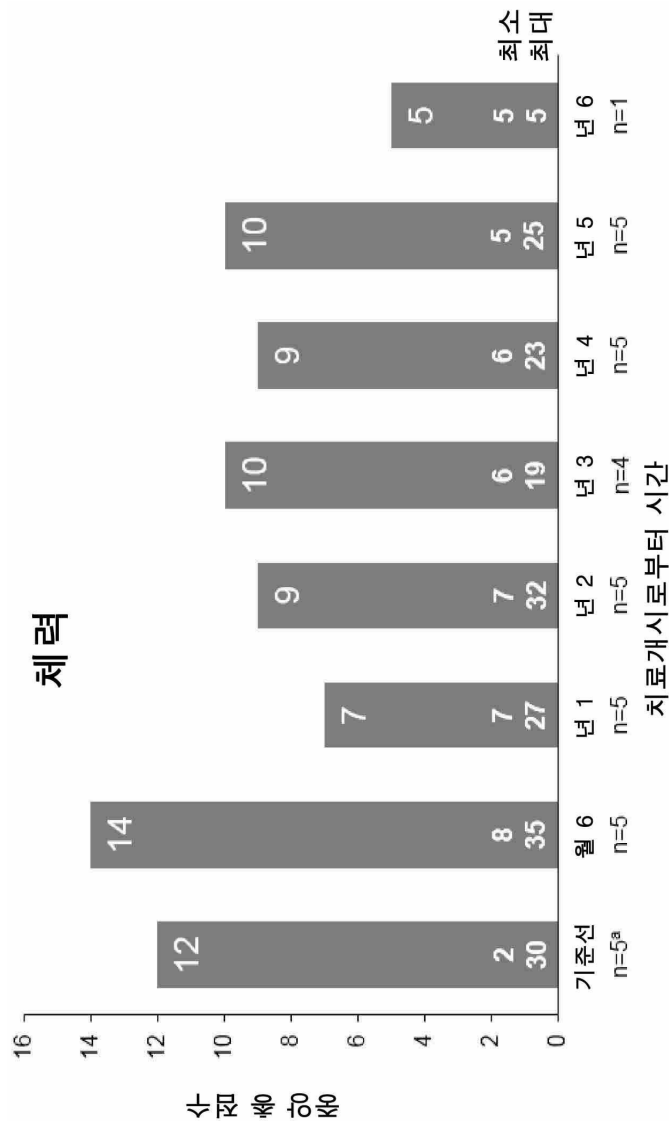
도면4



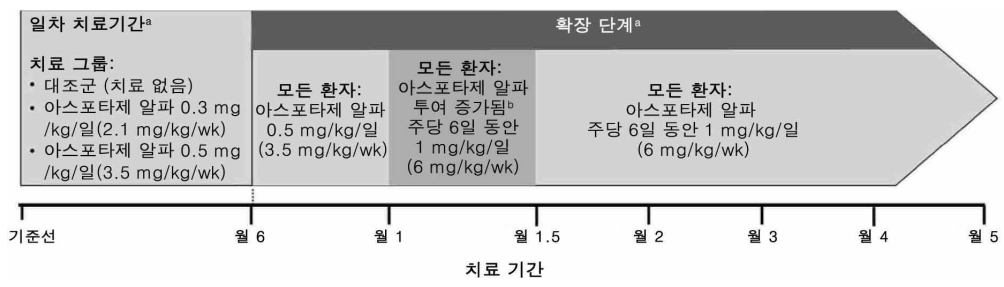
도면5



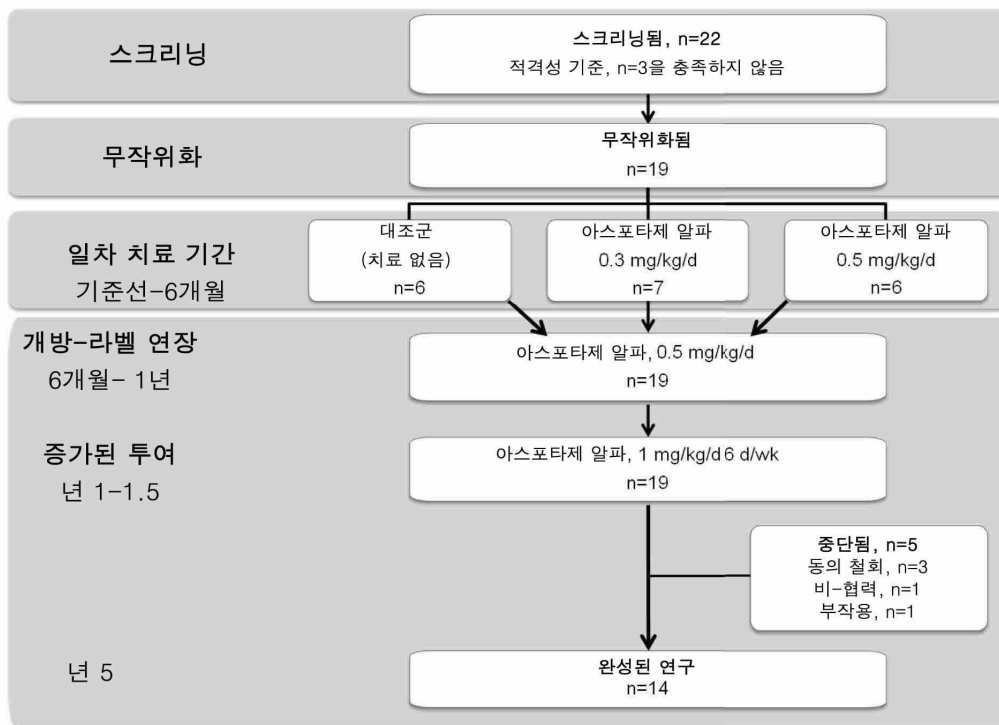
도면6



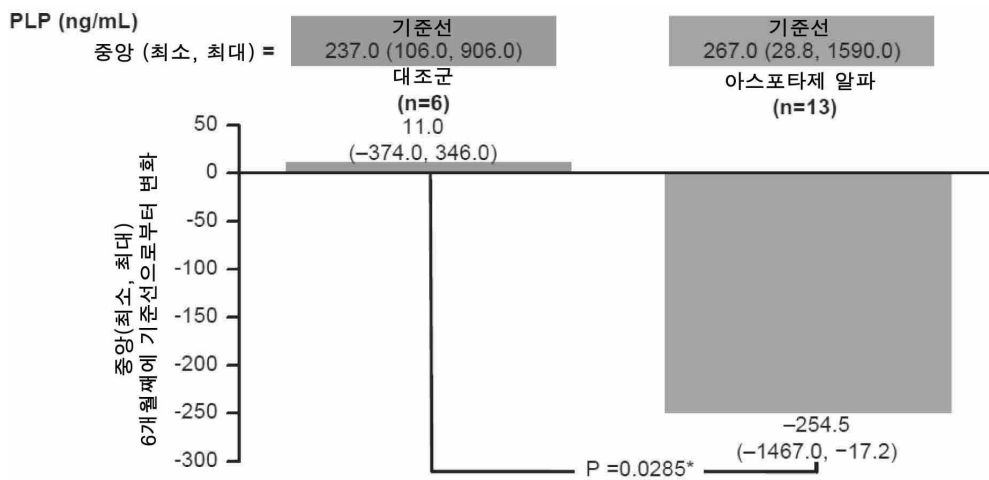
도면7



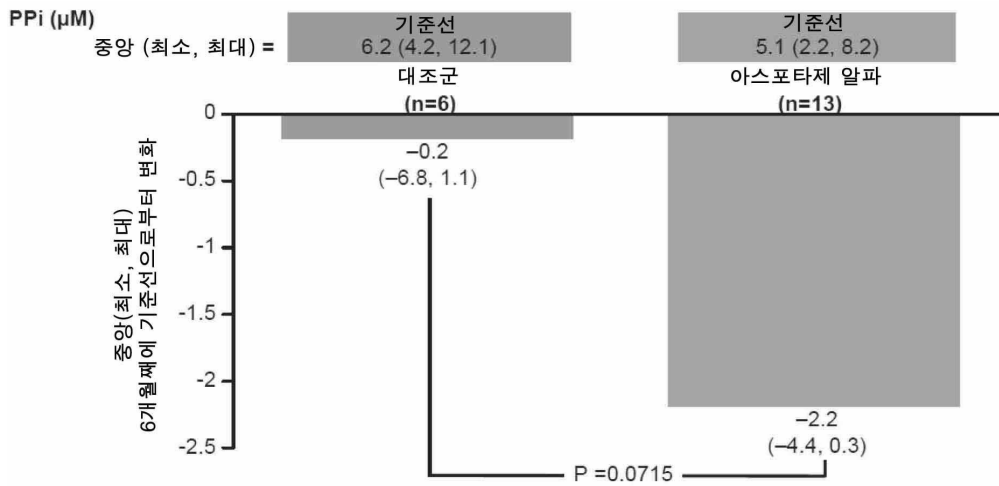
도면8



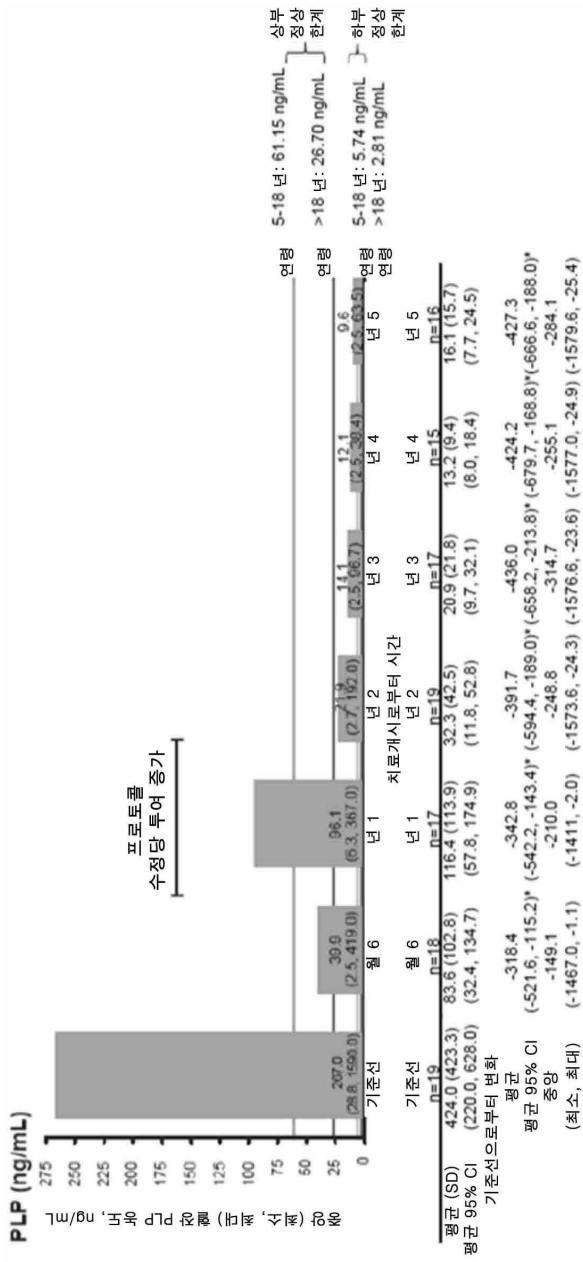
도면9a



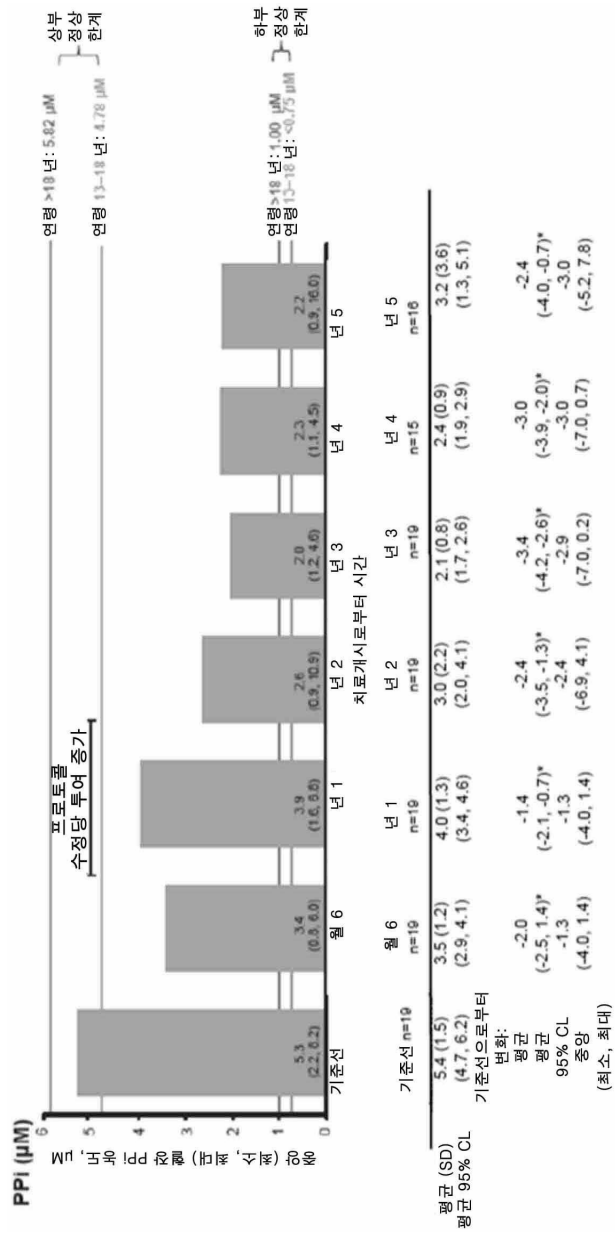
도면9b



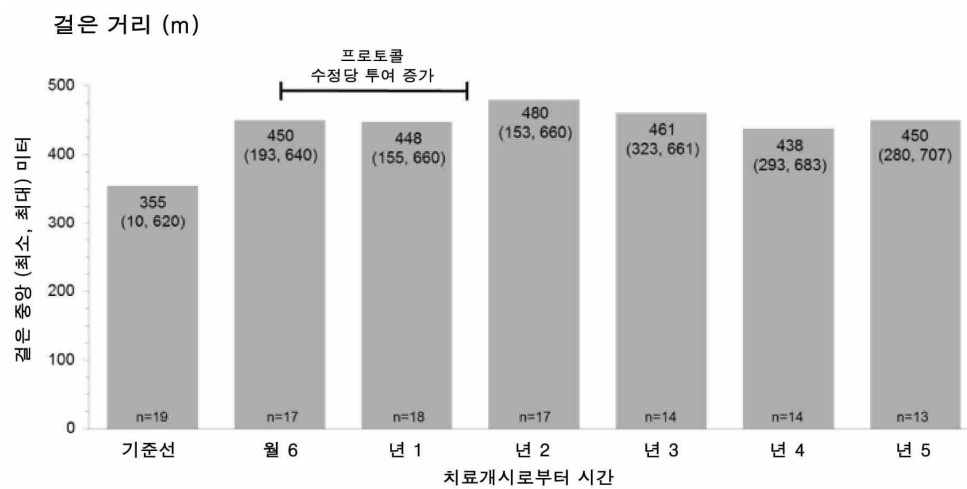
도면10a



도면10b

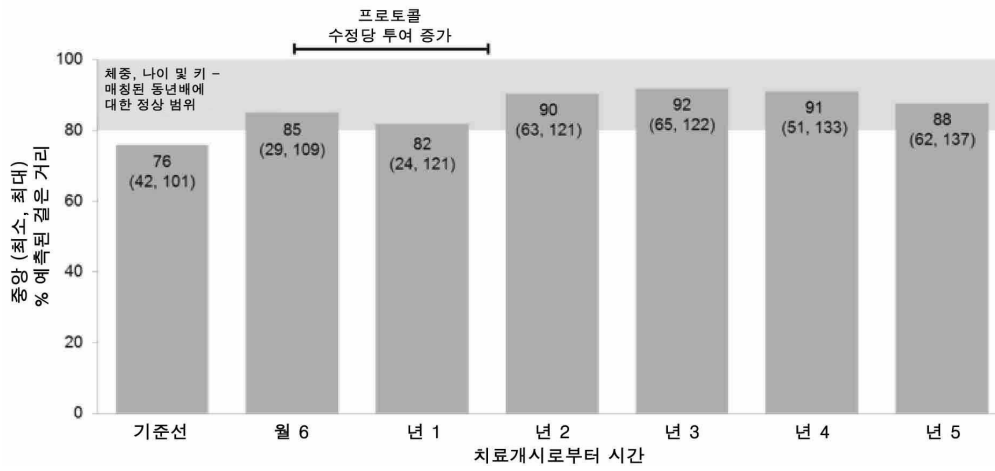


도면11a



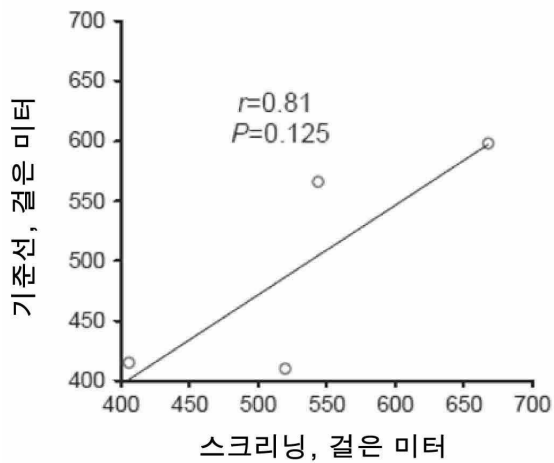
도면11b

% 예측된 걸은 거리



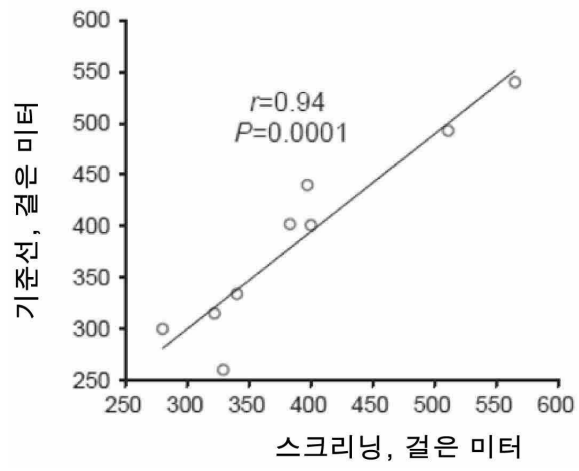
도면12a

청소년 (n=4)

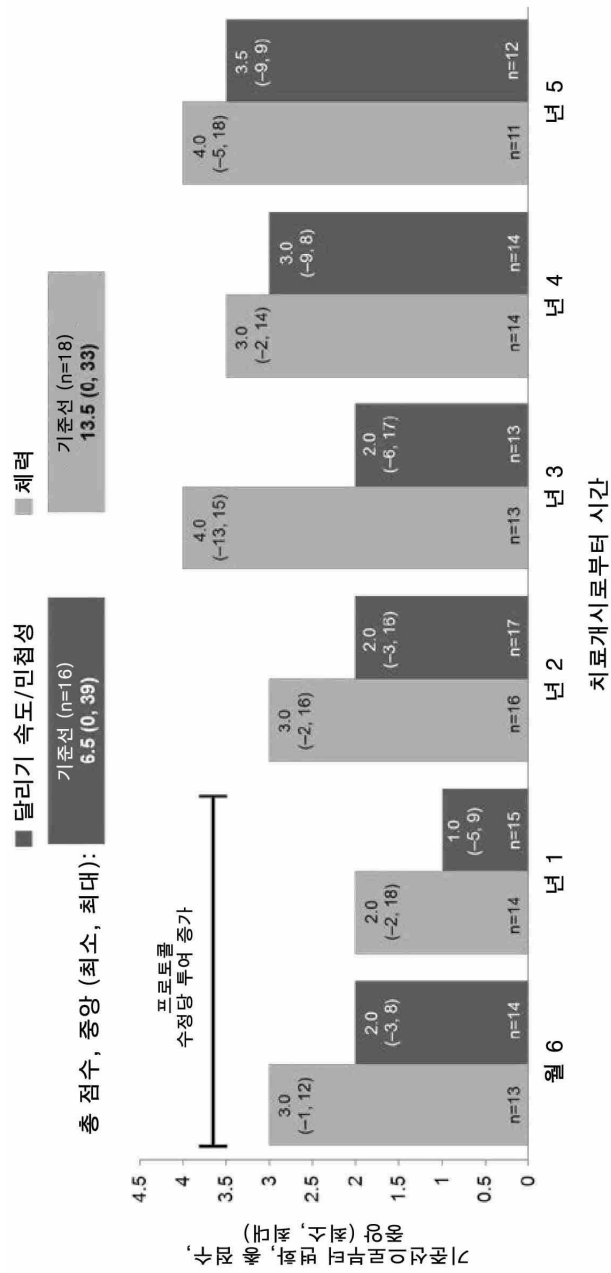


도면12b

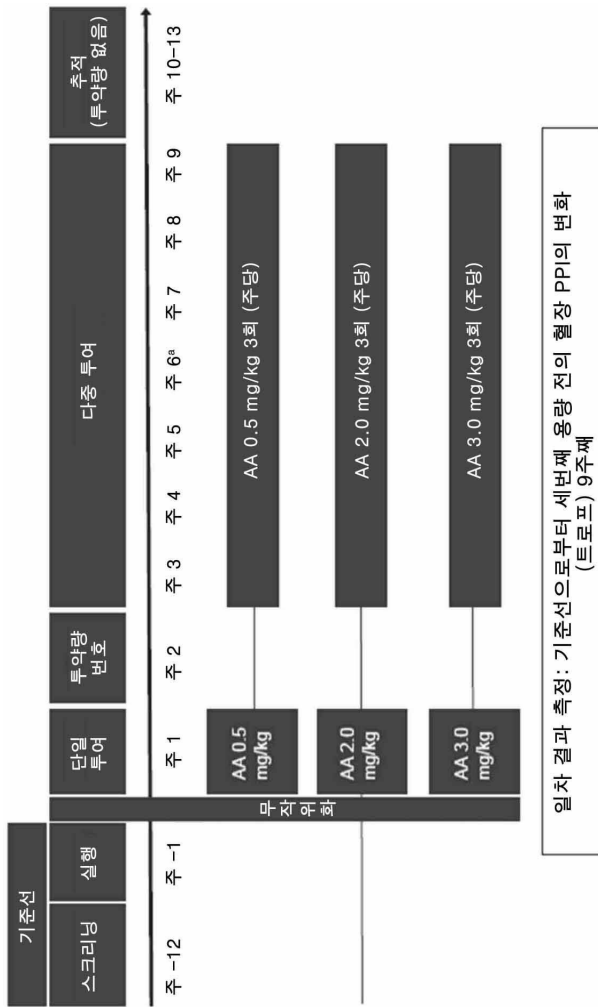
성인 (n=9)



도면13

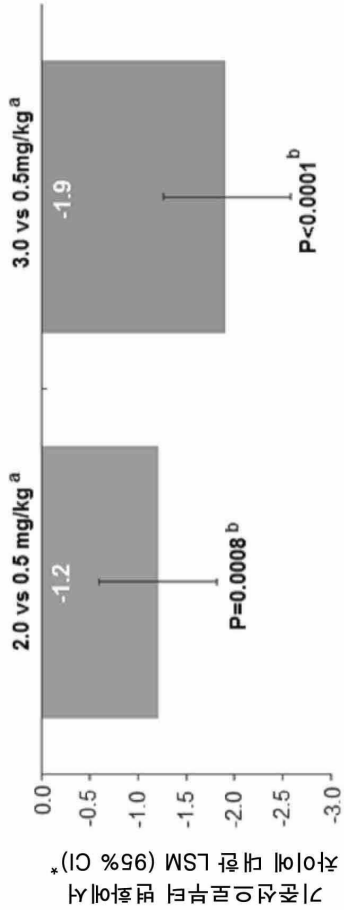


도면14



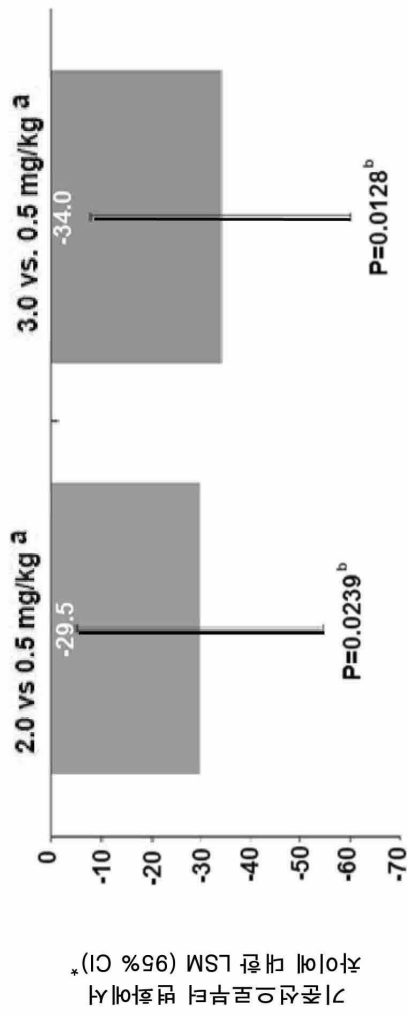
\* PD 평가는 8주째에 수행되지 않았다.  
AA=아포스파제 일파; PD=약동학; PPI=무기 피이로프스페이트.

도면15



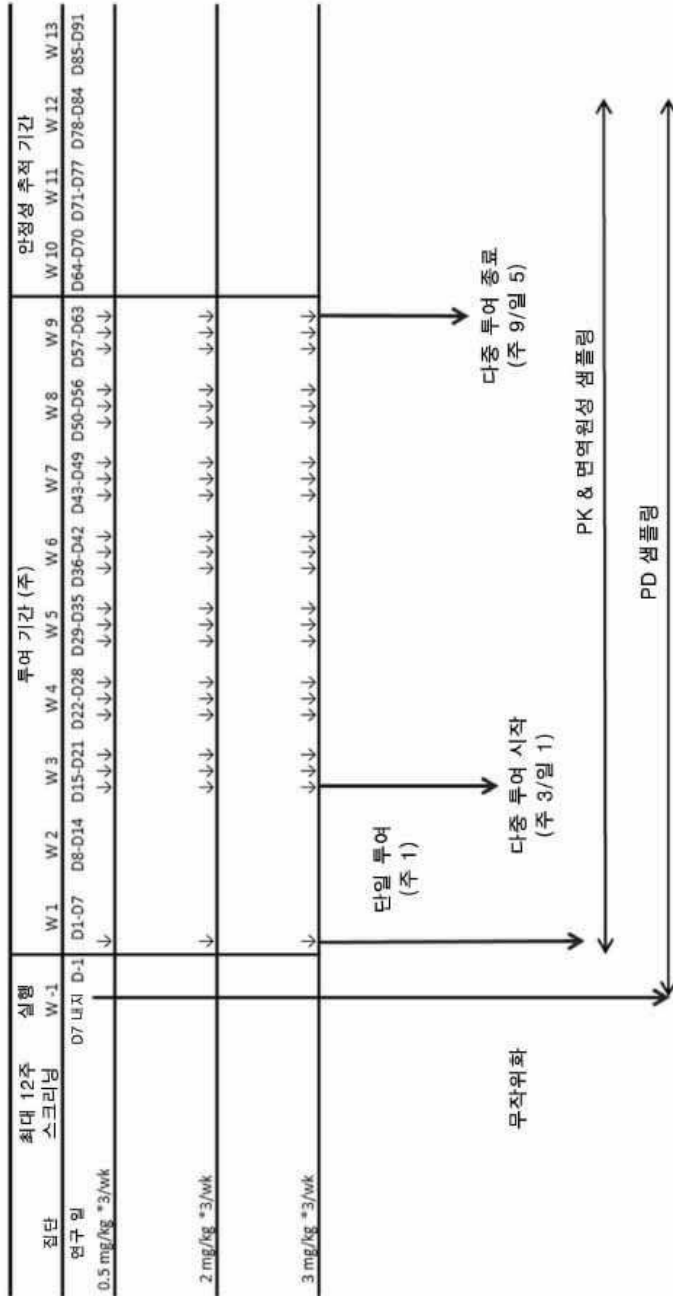
a 다중 투여 기간 동안 주당 3회 투여된 투약량.  
 b 일차 분석으로부터 제한된 최대 가능성-기반 반복된 측정 혼합된 모델  
 CI=신뢰 구간; LSM=최소 제곱 평균; PPI=무기 파이로포스페이트

도면16



<sup>a</sup> 다중 투여 기간 동안 주당 3회 투여된 투약량.  
<sup>b</sup> 일차 분석으로부터 제한된 최대 가능성-기반 반복된 측정 혼합된 모델.  
 CI=신뢰 구간; LSM=최소 제곱 평균; PLP=피리독살 5'-포스페이트

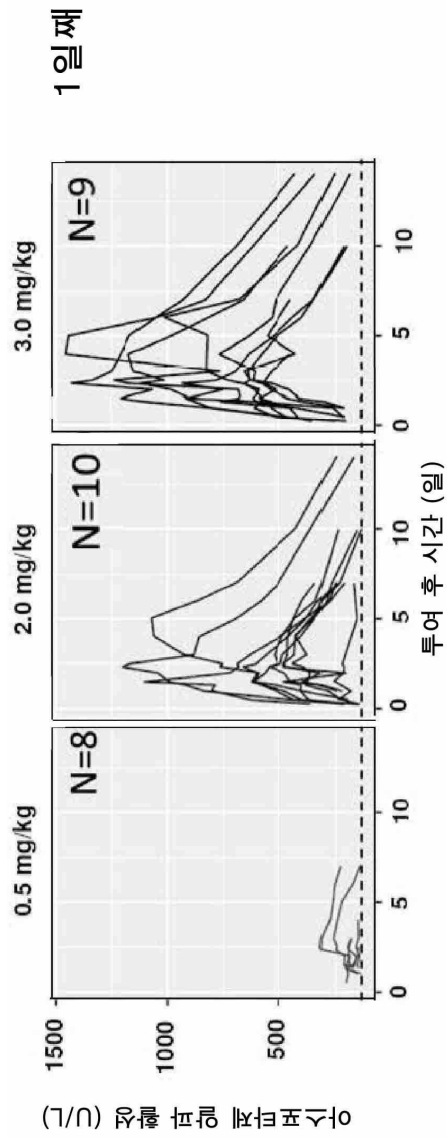
도면17a



도면17b

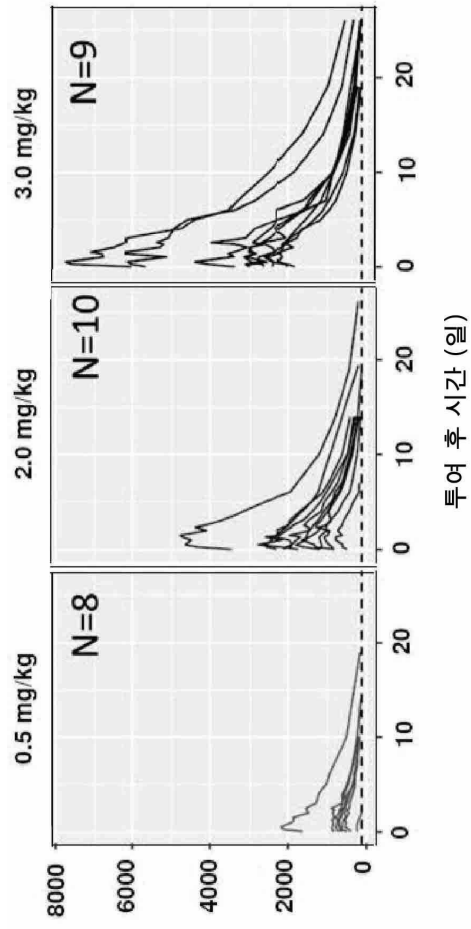
실행 기간	주	샘플링 시간	투여 <sup>2</sup>	PK, PPI 및 PLP	ADA
단일 투여	주 -1	-7일째: -168시간, -156시간 투여 -1일째: -24시간, -12시간 투여	NA	PPI 및 PLP 만	NA
투여 없음	주 1	1일째: 투여전; 투여후 6시간, 12시간 2일째: D1 용량후 24시간, 32시간, 36시간 3일째: D1 용량후 48시간, 56시간, 60시간 4 일째: D1 용량후 72시간 5 일째: D1 용량후 96시간 6 일째: D1 용량후 120시간 7 일째: D1 용량후 144시간 8 일째: D1 용량후 168시간 11 일째: D1 용량후 240시간	D1 (단일-투여) 없음	전부 전부	1일째: 투여전
투여 없음	주 2	15 일째: 투여전, 투여후 6시간 22 일째: 투여전, 투여후 6시간 29 일째: 투여전 (트리프), 투여후 6시간 없음	없음	전부	8일째: D1 용량후 168시간 15일째: 투여전 22일째: 투여전 29일째: 투여전
주 단위로 투여 (주당3회)	주 3	43 일째: 투여전 (트리프), 투여후 6시간 50 일째: 투여전 (트리프), 투여후 6시간 57 일째: 투여전 61 일째: 투여전 (트리프), 투여후 6시간, 12시간	D15, D17, D19 D22, D24, D26 D29, D31, D33 D36, D38, D40 D43, D45, D47 D50, D52, D54 D57, D59, D61	전부 전부 전부 없음 전부 전부 전부	없음
투여 없음	주 4	62 일째: D61 용량후 24시간, 32시간, 36시간 63 일째: D61 용량후 48시간, 56시간, 60시간 64 일째: D61 용량후 72시간 65 일째: D61 용량후 96시간 66 일째: D61 용량후 120시간 67 일째: D61 용량후 144시간 68 일째: D61 용량후 168시간 71 일째: D61 용량후 240시간 75 일째: D61 용량후 336시간 80 일째: D61 용량후 456시간 87 일째: D61 용량후 624시간	없음	전부	68일째: D61 용량후 168시간
	주 5				
	주 6				
	주 7				
	주 8				
	주 9				
	주 10				
	주 11				
	주 12				
	주 13				

도면18a



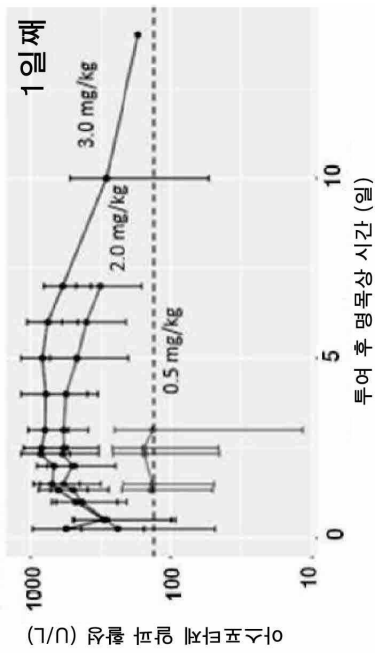
도면18b

61일째

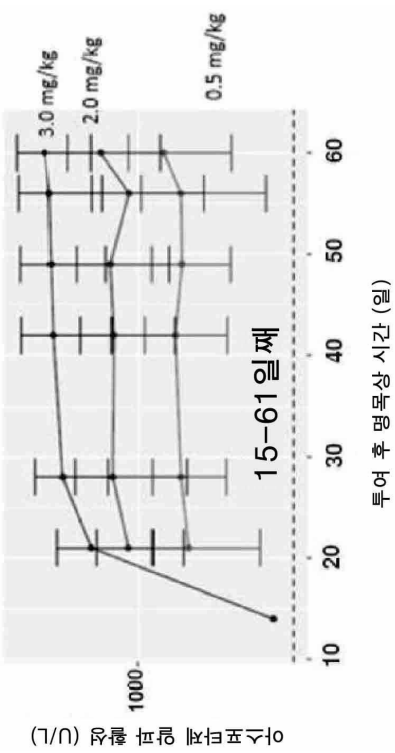


아스파르트산 농도 (U/L)

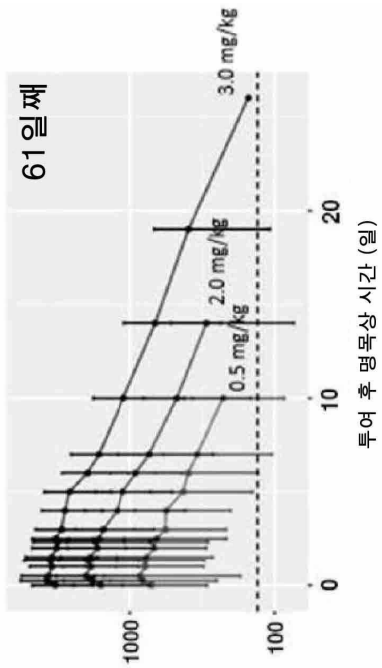
도면19a



도면19b

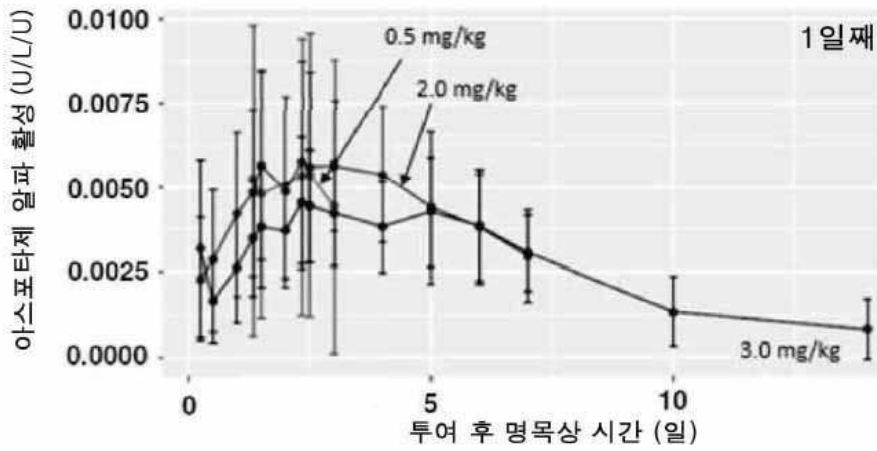


도면19c

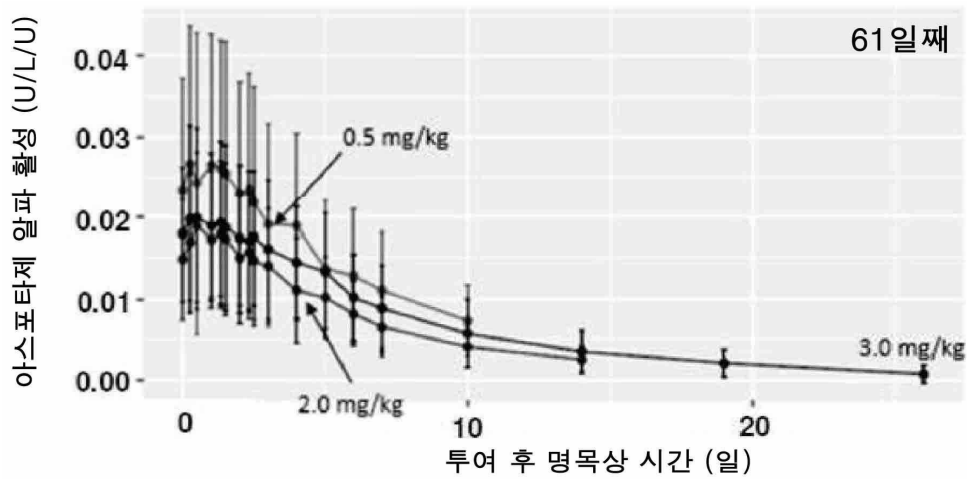


(7/7) 5000 1000 100 10 1 0.1 0.01 0.001 0.0001

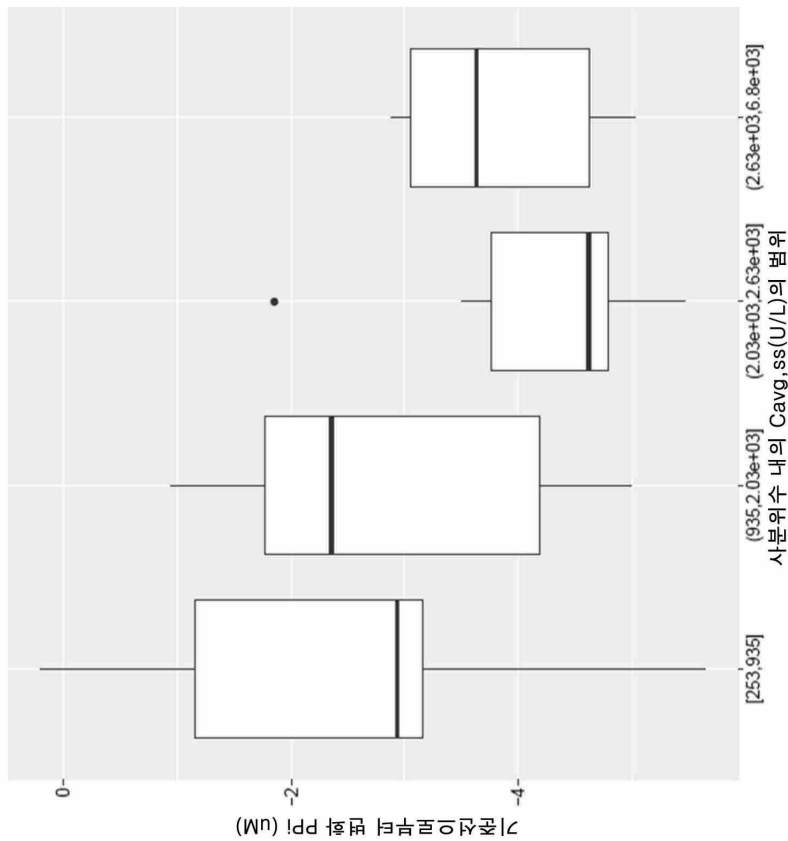
도면20a



도면20b



도면21



서열목록

- <110> Alexion Pharmaceuticals, Inc.
- <120> METHODS FOR TREATING HYPOPHOSPHATASIA (HPP) IN ADULTS AND ADOLESCENTS
- <130> 50694-069W04
- <150> US 62/643,953

<151> 2018-03-16  
 <150> US 62/502,255  
 <151> 2017-05-05  
 <150> US 62/480,213  
 <151> 2017-03-31  
 <160> 20  
 <170> KoPatentIn version 3.0  
 <210> 1  
 <211> 726  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic Construct  
 <400> 1

Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln Ala

1	5	10	15
Gln Glu Thr	Leu Lys Tyr	Ala Leu Glu	Leu Gln Lys
			Leu Asn Thr
	20	25	30
Val Ala Lys	Asn Val Ile	Met Phe Leu	Gly Asp Gly
			Met Gly Val
	35	40	45
Thr Val Thr	Ala Ala Arg	Ile Leu Lys	Gly Gln Leu
			His His Asn
	50	55	60
Gly Glu Glu	Thr Arg Leu	Glu Met Asp	Lys Phe Pro
			Phe Val Ala
	65	70	75
			80
Ser Lys Thr	Tyr Asn Thr	Asn Ala Gln	Val Pro Asp
			Ser Ala Gly
	85	90	95
Ala Thr Ala	Tyr Leu Cys	Gly Val Lys	Ala Asn Glu
			Gly Thr Val
	100	105	110
Val Ser Ala	Ala Thr Glu	Arg Ser Arg	Cys Asn Thr
			Thr Thr Gln
	115	120	125
Glu Val Thr	Ser Ile Leu	Arg Trp Ala	Lys Asp Ala
			Gly Lys Ser
	130	135	140
Gly Ile Val	Thr Thr Thr	Arg Val Asn	His Ala Thr
			Pro Ser Ala

145                    150                    155                    160  
 Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met Pro  
    165                    170                    175  
 Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu Met  
    180                    185                    190  
 His Asn Ile Arg Asp Ile Asp Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys Tyr  
    195                    200                    205  
 Met Tyr Pro Lys Asn Lys Thr Asp Val Glu Tyr Glu Ser Asp Glu Lys  
    210                    215                    220  
  
 Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asp Leu Val Asp Thr Trp Lys  
 225                    230                    235                    240  
 Ser Phe Lys Pro Arg Tyr Lys His Ser His Phe Ile Trp Asn Arg Thr  
    245                    250                    255  
 Glu Leu Leu Thr Leu Asp Pro His Asn Val Asp Tyr Leu Leu Gly Leu  
    260                    265                    270  
 Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Val Thr  
    275                    280                    285  
 Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Val Val Ala Ile Gln Ile Leu Arg  
  
    290                    295                    300  
 Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile Asp  
 305                    310                    315                    320  
 His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala Val  
    325                    330                    335  
 Glu Met Asp Arg Ala Ile Gly Gln Ala Gly Ser Leu Thr Ser Ser Glu  
    340                    345                    350  
 Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr Phe  
    355                    360                    365  
  
 Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro Met  
    370                    375                    380  
 Leu Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly Asn  
 385                    390                    395                    400  
 Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser Met



Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 660 665 670  
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 675 680 685  
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 690 695 700  
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Asp Ile Asp Asp Asp Asp  
 705 710 715 720  
 Asp Asp Asp Asp Asp Asp

725

<210> 2  
 <211> 524  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 2

Met Ile Ser Pro Phe Leu Val Leu Ala Ile Gly Thr Cys Leu Thr Asn  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln  
 20 25 30  
 Ala Gln Glu Thr Leu Lys Tyr Ala Leu Glu Leu Gln Lys Leu Asn Thr  
 35 40 45  
 Asn Val Ala Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val  
 50 55 60  
 Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn  
 65 70 75 80  
 Pro Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Phe Val Ala  
 85 90 95  
 Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly  
 100 105 110  
 Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val  
 115 120 125  
 Gly Val Ser Ala Ala Thr Glu Arg Ser Arg Cys Asn Thr Thr Gln Gly

130                      135                      140  
 Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser  
 145                      150                      155                      160  
 Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala  
                                  165                      170                      175  
 Ala Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met  
                                  180                      185                      190  
 Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu  
  
                                  195                      200                      205  
 Met His Asn Ile Arg Asp Ile Asp Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys  
                                  210                      215                      220  
 Tyr Met Tyr Pro Lys Asn Lys Thr Asp Val Glu Tyr Glu Ser Asp Glu  
 225                      230                      235                      240  
 Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asp Leu Val Asp Thr Trp  
                                  245                      250                      255  
 Lys Ser Phe Lys Pro Arg Tyr Lys His Ser His Phe Ile Trp Asn Arg  
                                  260                      265                      270  
  
 Thr Glu Leu Leu Thr Leu Asp Pro His Asn Val Asp Tyr Leu Leu Gly  
                                  275                      280                      285  
 Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Val  
                                  290                      295                      300  
 Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Val Val Ala Ile Gln Ile Leu  
 305                      310                      315                      320  
 Arg Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile  
                                  325                      330                      335  
 Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala  
  
                                  340                      345                      350  
 Val Glu Met Asp Arg Ala Ile Gly Gln Ala Gly Ser Leu Thr Ser Ser  
                                  355                      360                      365  
 Glu Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr  
                                  370                      375                      380  
 Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro

385                    390                    395                    400  
 Met Leu Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly  
                           405                    410                    415  
  
 Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser  
                           420                    425                    430  
 Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro  
                           435                    440                    445  
 Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ser Lys  
                           450                    455                    460  
 Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Val  
 465                    470                    475                    480  
 Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Leu Gly His  
  
                           485                    490                    495  
 Cys Ala Pro Ala Ser Ser Ala Gly Ser Leu Ala Ala Gly Pro Leu Leu  
                           500                    505                    510  
 Leu Ala Leu Ala Leu Tyr Pro Leu Ser Val Leu Phe  
                           515                    520  
 <210>     3  
 <211>     524  
 <212>     PRT  
 <213>     Homo sapiens  
 <400>     3  
 Met Ile Ser Pro Phe Leu Val Leu Ala Ile Gly Thr Cys Leu Thr Asn  
    1                    5                    10                    15  
 Ser Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln  
  
                           20                    25                    30  
 Ala Gln Glu Thr Leu Lys Tyr Ala Leu Glu Leu Gln Lys Leu Asn Thr  
                           35                    40                    45  
 Asn Val Ala Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val  
                           50                    55                    60  
 Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn  
    65                    70                    75                    80

Pro Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Phe Val Ala  
 85 90 95

Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly  
 100 105 110

Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val  
 115 120 125

Gly Val Ser Ala Ala Thr Glu Arg Ser Arg Cys Asn Thr Thr Gln Gly  
 130 135 140

Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser  
 145 150 155 160

Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala  
 165 170 175

Ala Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met  
 180 185 190

Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu  
 195 200 205

Met His Asn Ile Arg Asp Ile Asp Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys  
 210 215 220

Tyr Met Tyr Pro Lys Asn Lys Thr Asp Val Glu Tyr Glu Ser Asp Glu  
 225 230 235 240

Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asp Leu Val Asp Thr Trp  
 245 250 255

Lys Ser Phe Lys Pro Arg His Lys His Ser His Phe Ile Trp Asn Arg  
 260 265 270

Thr Glu Leu Leu Thr Leu Asp Pro His Asn Val Asp Tyr Leu Leu Gly  
 275 280 285

Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Val  
 290 295 300

Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Val Val Ala Ile Gln Ile Leu  
 305 310 315 320

Arg Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile

325 330 335  
 Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala  
 340 345 350  
 Val Glu Met Asp Arg Ala Ile Gly Gln Ala Gly Ser Leu Thr Ser Ser  
 355 360 365  
 Glu Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr  
 370 375 380

Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro  
 385 390 395 400  
 Met Leu Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly  
 405 410 415  
 Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser  
 420 425 430  
 Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro  
 435 440 445  
 Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ser Lys

450 455 460  
 Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Val  
 465 470 475 480  
 Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Leu Gly His  
 485 490 495  
 Cys Ala Pro Ala Ser Ser Ala Gly Ser Leu Ala Ala Gly Pro Leu Leu  
 500 505 510  
 Leu Ala Leu Ala Leu Tyr Pro Leu Ser Val Leu Phe  
 515 520

- <210> 4
- <211> 524
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <400> 4

Met Ile Ser Pro Phe Leu Val Leu Ala Ile Gly Thr Cys Leu Thr Asn  
 1 5 10 15

Ser Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln  
 20 25 30  
 Ala Gln Glu Thr Leu Lys Tyr Ala Leu Glu Leu Gln Lys Leu Asn Thr  
 35 40 45  
 Asn Val Ala Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val  
 50 55 60  
 Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn  
 65 70 75 80  
 Pro Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Phe Val Ala  
 85 90 95  
 Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly  
 100 105 110  
 Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val  
 115 120 125  
 Gly Val Ser Ala Ala Thr Glu Arg Ser Arg Cys Asn Thr Thr Gln Gly  
 130 135 140  
 Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser  
 145 150 155 160  
 Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala  
 165 170 175  
 Ala Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met  
 180 185 190  
 Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu  
 195 200 205  
 Met His Asn Ile Arg Asp Ile Asp Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys  
 210 215 220  
 Tyr Met Tyr Pro Lys Asn Lys Thr Asp Val Glu Tyr Glu Ser Asp Glu  
 225 230 235 240  
 Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asp Leu Val Asp Thr Trp  
 245 250 255  
 Lys Ser Phe Lys Pro Arg Tyr Lys His Ser His Phe Ile Trp Asn Arg



Leu Ala Leu Ala Leu Tyr Pro Leu Ser Val Leu Phe  
           515                          520  
 <210> 5  
 <211> 524  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 5  
 Met Ile Ser Pro Phe Leu Val Leu Ala Ile Gly Thr Cys Leu Thr Asn  
   1                  5                          10                          15  
 Ser Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln  
                   20                          25                          30  
 Ala Gln Glu Thr Leu Lys Tyr Ala Leu Glu Leu Gln Lys Leu Asn Thr  
                   35                          40                          45  
 Asn Val Ala Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val  
           50                          55                          60  
 Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn  
   65                  70                          75                          80  
 Pro Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Phe Val Ala  
                   85                          90                          95  
  
 Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly  
           100                          105                          110  
 Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val  
           115                          120                          125  
 Gly Val Ser Ala Ala Thr Glu Arg Ser Arg Cys Asn Thr Thr Gln Gly  
           130                          135                          140  
 Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser  
   145                  150                          155                          160  
 Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala  
                   165                          170                          175  
 Ala Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met  
           180                          185                          190  
 Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu



Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ser Lys

450 455 460

Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Val

465 470 475 480

Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Leu Gly His

485 490 495

Cys Ala Pro Ala Ser Ser Ala Gly Ser Leu Ala Ala Gly Pro Leu Leu

500 505 510

Leu Ala Leu Ala Leu Tyr Pro Leu Ser Val Leu Phe

515 520

<210> 6

<211> 524

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Met Ile Ser Pro Phe Leu Val Leu Ala Ile Gly Thr Cys Leu Thr Asn

1 5 10 15

Ser Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln

20 25 30

Ala Gln Glu Thr Leu Lys Tyr Ala Leu Glu Leu Gln Lys Leu Asn Thr

35 40 45

Asn Val Ala Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val

50 55 60

Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn

65 70 75 80

Pro Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Phe Val Ala

85 90 95

Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly

100 105 110

Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val

115 120 125

Gly Val Ser Ala Ala Thr Glu Arg Ser Arg Cys Asn Thr Thr Gln Gly  
 130 135 140  
 Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser  
 145 150 155 160  
 Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala  
 165 170 175  
 Ala Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met  
 180 185 190  
 Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu  
 195 200 205  
 Met His Asn Ile Arg Asp Ile Asp Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys  
 210 215 220  
 Tyr Met Tyr Pro Lys Asn Lys Thr Asp Val Glu Tyr Glu Ser Asp Glu  
 225 230 235 240  
 Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asp Leu Val Asp Thr Trp  
 245 250 255  
 Lys Ser Phe Lys Pro Arg His Lys His Ser His Phe Ile Trp Asn Arg  
 260 265 270  
 Thr Glu Leu Leu Thr Leu Asp Pro His Asn Val Asp Tyr Leu Leu Gly  
 275 280 285  
 Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Val  
 290 295 300  
 Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Val Val Ala Ile Gln Ile Leu  
 305 310 315 320  
 Arg Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile  
 325 330 335  
 Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala  
 340 345 350  
 Val Glu Met Asp Arg Ala Ile Gly Gln Ala Gly Ser Leu Thr Ser Ser  
 355 360 365  
 Glu Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr  
 370 375 380

Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro  
 385                      390                      395                      400  
 Met Leu Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly  
                                  405                      410                      415  
  
 Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser  
                                  420                      425                      430  
 Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro  
                                  435                      440                      445  
 Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ser Lys  
                                  450                      455                      460  
 Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Val  
 465                      470                      475                      480  
 Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Leu Gly His  
  
                                  485                      490                      495  
 Cys Ala Pro Ala Ser Ser Ala Gly Ser Leu Ala Ala Gly Pro Leu Leu  
                                  500                      505                      510  
 Leu Ala Leu Ala Leu Tyr Pro Leu Ser Val Leu Phe  
                                  515                      520  
 <210>     7  
 <211>     652  
 <212>     PRT  
 <213>     Macaca mulatta  
 <400>     7  
 Met Pro Thr Val Lys Thr Lys Gln Glu Ser His Ala Gly Ser Gly Ser  
    1                      5                      10                      15  
 Gly Pro Arg Leu Ala Glu Arg Lys Gly Arg Val Gly Ala Ala Arg Arg  
  
                                  20                      25                      30  
 Gln Ser Pro Arg Ala Pro Gly Gly Gly Leu Pro Gly Pro Arg Ser Gly  
                                  35                      40                      45  
 Pro Ala Ala Ala Phe Ile Arg Arg Arg Gly Arg Trp Pro Gly Pro Arg  
                                  50                      55                      60  
 Cys Ala Pro Ala Thr Pro Arg Pro Arg Ser Arg Leu Cys Ala Pro Thr





Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ser Lys  
                   580                          585                          590  
 Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Ile  
                   595                          600                          605  
 Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Leu Asp His  
                   610                          615                          620  
 Cys Ala Pro Ala Ser Ser Ala Gly Ser Leu Ala Ala Gly Pro Leu Leu  
 625                          630                          635                          640  
 Leu Pro Leu Ala Leu Phe Pro Leu Ser Ile Leu Phe  
                   645                          650  
 <210> 8  
 <211> 524  
 <212> PRT  
 <213> Rattus norvegicus  
 <400> 8  
 Met Ile Leu Pro Phe Leu Val Leu Ala Ile Gly Pro Cys Leu Thr Asn  
                   1                          5                          10                          15  
 Ser Phe Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Ser Tyr Trp Arg Gln Gln  
                   20                          25                          30  
 Ala Gln Glu Thr Leu Lys Asn Ala Leu Lys Leu Gln Lys Leu Asn Thr  
                   35                          40                          45  
 Asn Val Ala Lys Asn Ile Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val  
                   50                          55                          60  
 Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn  
 65                          70                          75                          80  
 Thr Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Phe Val Ala  
                   85                          90                          95  
 Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly  
                   100                          105                          110  
 Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val  
                   115                          120                          125  
 Gly Val Ser Ala Ala Thr Glu Arg Thr Arg Cys Asn Thr Thr Gln Gly



Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro  
 385                      390                      395                      400  
 Met Val Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly  
                                  405                      410                      415  
 Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Asp Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser  
                                  420                      425                      430  
 Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro  
                                  435                      440                      445  
 Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Lys  
                                  450                      455                      460  
 Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Ile  
 465                      470                      475                      480  
 Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ser Cys Ile Gly Ala Asn Leu Asp His  
                                  485                      490                      495  
 Cys Ala Trp Ala Ser Ser Ala Ser Ser Pro Ser Pro Gly Ala Leu Leu  
                                  500                      505                      510  
  
 Leu Pro Leu Ala Leu Phe Pro Leu Arg Thr Leu Phe  
                                  515                      520  
 <210>    9  
 <211>    502  
 <212>    PRT  
 <213>    Canis lupus familiaris  
 <400>    9  
 Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln Ala Gln Gln Thr Leu Lys  
   1                      5                      10                      15  
 Tyr Ala Leu Arg Leu Gln Asn Leu Asn Thr Asn Val Ala Lys Asn Val  
                                  20                      25                      30  
 Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val Ser Thr Val Thr Ala Thr  
                                  35                      40                      45  
  
 Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn Pro Gly Glu Glu Thr Arg  
                                  50                      55                      60  
 Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Tyr Val Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Asn





Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Glu Met Ala Ile Arg Ile Leu  
 35 40 45  
 Ile Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile  
 50 55 60  
 Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala  
 65 70 75 80  
 Val Glu Met Asp Arg Ala Ile Glu Gln Ala Gly Ser Met Thr Ser Val  
 85 90 95  
 Glu Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr  
 100 105 110  
  
 Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro  
 115 120 125  
 Met Val Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly  
 130 135 140  
 Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser  
 145 150 155 160  
 Met Val Asp Tyr Ala His Asp Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro  
 165 170 175  
 Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Ile Phe Ala Arg  
  
 180 185 190  
 Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Ile  
 195 200 205  
 Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Val Gly Ala Asn Arg Asp His  
 210 215 220  
 Cys Ala Ser Ala Ser Ser Ser Gly Ser Pro Ser Pro Gly Pro Leu Leu  
 225 230 235 240  
 Leu Leu Leu Ala Leu Leu Pro Leu Gly Ile Leu Phe  
 245 250

<210> 11  
 <211> 524  
 <212> PRT

<213> Mus musculus  
 <400> 11  
 Met Ile Ser Pro Phe Leu Val Leu Ala Ile Gly Thr Cys Leu Thr Asn  
 1 5 10 15  
 Ser Phe Val Pro Glu Lys Glu Arg Asp Pro Ser Tyr Trp Arg Gln Gln  
 20 25 30  
 Ala Gln Glu Thr Leu Lys Asn Ala Leu Lys Leu Gln Lys Leu Asn Thr  
 35 40 45  
 Asn Val Ala Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val  
 50 55 60  
 Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn  
 65 70 75 80  
 Thr Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Phe Val Ala  
 85 90 95  
 Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly  
 100 105 110  
 Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val  
 115 120 125  
 Gly Val Ser Ala Ala Thr Glu Arg Thr Arg Cys Asn Thr Thr Gln Gly  
 130 135 140  
 Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser  
 145 150 155 160  
 Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala  
 165 170 175  
 Ala Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met  
 180 185 190  
 Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu  
 195 200 205  
 Met His Asn Ile Lys Asp Ile Asp Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys  
 210 215 220  
 Tyr Met Tyr Pro Lys Asn Arg Thr Asp Val Glu Tyr Glu Leu Asp Glu  
 225 230 235 240

Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asp Leu Ile Ser Ile Trp  
                           245                          250                          255  
 Lys Ser Phe Lys Pro Arg His Lys His Ser His Tyr Val Trp Asn Arg  
                           260                          265                          270  
  
 Thr Glu Leu Leu Ala Leu Asp Pro Ser Arg Val Asp Tyr Leu Leu Gly  
                           275                          280                          285  
 Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Leu  
                           290                          295                          300  
 Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Glu Val Ala Leu Arg Ile Leu  
 305                          310                          315                          320  
 Thr Lys Asn Leu Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile  
                           325                          330                          335  
 Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala  
  
                           340                          345                          350  
 Val Glu Met Asp Gln Ala Ile Gly Lys Ala Gly Ala Met Thr Ser Gln  
                           355                          360                          365  
 Lys Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr  
                           370                          375                          380  
 Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro  
 385                          390                          395                          400  
 Met Val Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly  
                           405                          410                          415  
  
 Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Asp Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser  
                           420                          425                          430  
 Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro  
                           435                          440                          445  
 Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Lys  
                           450                          455                          460  
 Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Ile  
 465                          470                          475                          480  
 Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ser Cys Ile Gly Ala Asn Leu Asp His



Ser Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met  
 180 185 190  
 Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu  
 195 200 205  
 Met His Asn Ile Lys Asp Ile Glu Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys  
 210 215 220  
 Tyr Met Phe Pro Lys Asn Arg Thr Asp Val Glu Tyr Glu Leu Asp Glu  
 225 230 235 240  
  
 Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asn Leu Ile Asp Ile Trp  
 245 250 255  
 Lys Ser Phe Lys Pro Lys His Lys His Ser His Tyr Val Trp Asn Arg  
 260 265 270  
 Thr Asp Leu Leu Ala Leu Asp Pro His Ser Val Asp Tyr Leu Leu Gly  
 275 280 285  
 Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Ala  
 290 295 300  
 Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Glu Met Ala Ile Arg Ile Leu  
  
 305 310 315 320  
 Asn Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile  
 325 330 335  
 Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala  
 340 345 350  
 Val Glu Met Asp Gln Ala Ile Gly Gln Ala Gly Ala Met Thr Ser Val  
 355 360 365  
 Glu Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr  
 370 375 380  
  
 Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro  
 385 390 395 400  
 Met Val Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly  
 405 410 415  
 Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser  
 420 425 430

Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro  
 435 440 445

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

Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Ile  
 465 470 475 480

Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Arg Asp His  
 485 490 495

Cys Ala Ser Ala Ser Ser Ser Gly Ser Pro Ser Pro Gly Pro Leu Leu  
 500 505 510

Leu Leu Leu Ala Leu Leu Pro Leu Gly Ser Leu Phe  
 515 520

<210> 13  
 <211> 524  
 <212> PRT  
 <213> Bos taurus  
 <400> 13

Met Ile Ser Pro Phe Leu Leu Leu Ala Ile Gly Thr Cys Phe Ala Ser  
 1 5 10 15

Ser Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln  
 20 25 30

Ala Gln Gln Thr Leu Lys Asn Ala Leu Arg Leu Gln Thr Leu Asn Thr  
 35 40 45

Asn Val Ala Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val  
 50 55 60

Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Ser  
 65 70 75 80

Pro Gly Glu Glu Thr Lys Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Tyr Val Ala  
 85 90 95

Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly  
 100 105 110

Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val



Glu Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr  
 370 375 380  
 Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro  
 385 390 395 400  
 Met Val Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly  
 405 410 415  
  
 Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser  
 420 425 430  
 Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro  
 435 440 445  
 Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Lys  
 450 455 460  
 Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Ile  
 465 470 475 480  
 Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Arg Asp His  
 485 490 495  
 Cys Ala Ser Ala Ser Ser Ser Gly Ser Pro Ser Pro Gly Pro Leu Leu  
 500 505 510  
 Leu Leu Leu Ala Leu Leu Pro Leu Gly Ser Leu Phe  
 515 520  
 <210> 14  
 <211> 124  
 <212> PRT  
 <213> Bos taurus  
 <400> 14  
 Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln Ala Gln Gln Thr Leu Lys Asn Ala  
 1 5 10 15  
 Leu Gly Leu Gln Lys Leu Asn Thr Lys Val Ala Lys Asn Val Ile Leu  
 20 25 30  
 Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile  
 35 40 45  
 Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn Pro Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu



Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ser Gly Lys Ser  
 145                      150                      155                      160  
 Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala  
                                  165                      170                      175  
  
 Ala Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met  
                                  180                      185                      190  
 Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu  
                                  195                      200                      205  
 Met His Asn Val Arg Asp Ile Glu Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys  
                                  210                      215                      220  
 Tyr Met Phe Pro Lys Asn Arg Thr Asp Val Glu Tyr Glu Met Asp Glu  
 225                      230                      235                      240  
 Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asn Leu Val Asp Ile Trp  
  
                                  245                      250                      255  
 Lys Ser Phe Lys Pro Arg His Lys His Ser His Tyr Val Trp Asn Arg  
                                  260                      265                      270  
 Thr Glu Leu Leu Thr Leu Asp Pro Tyr Gly Val Asp Tyr Leu Leu Gly  
                                  275                      280                      285  
 Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Ser Thr  
                                  290                      295                      300  
 Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Glu Ile Ala Ile Lys Ile Leu  
 305                      310                      315                      320  
  
 Ser Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile  
                                  325                      330                      335  
 Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala  
                                  340                      345                      350  
 Val Glu Met Asp Gln Ala Ile Gly Arg Ala Gly Ala Met Thr Ser Val  
                                  355                      360                      365  
 Glu Asp Thr Leu Thr Ile Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr  
                                  370                      375                      380  
 Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro



Lys Leu Gly Pro Glu Thr Phe Leu Ala Met Asp Arg Phe Pro Tyr Val  
                           85                          90                          95  
 Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Ser Val Asp Lys His Val Pro Asp Ser Gly  
                           100                          105                          110  
 Ala Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Gly Asn Phe Gln Thr  
                           115                          120                          125  
 Ile Gly Leu Ser Ala Ala Ala Arg Phe Asn Gln Cys Asn Thr Thr Arg  
  
                           130                          135                          140  
 Gly Asn Glu Val Ile Ser Val Met Asn Arg Ala Lys Lys Ala Gly Lys  
 145                          150                          155                          160  
 Ser Val Gly Val Val Thr Thr Thr Arg Val Gln His Ala Ser Pro Ala  
                           165                          170                          175  
 Gly Ala Tyr Ala His Thr Val Asn Arg Asn Trp Tyr Ser Asp Ala Asp  
                           180                          185                          190  
 Val Pro Ala Ser Ala Arg Gln Glu Gly Cys Gln Asp Ile Ala Thr Gln  
                           195                          200                          205  
  
 Leu Ile Ser Asn Met Asp Ile Asp Val Ile Leu Gly Gly Gly Arg Lys  
                           210                          215                          220  
 Tyr Met Phe Pro Met Gly Thr Pro Asp Pro Glu Tyr Pro Asp Asp Tyr  
 225                          230                          235                          240  
 Ser Gln Gly Gly Thr Arg Leu Asp Gly Lys Asn Leu Val Gln Glu Trp  
                           245                          250                          255  
 Leu Ala Lys His Gln Gly Ala Arg Tyr Val Trp Asn Arg Thr Glu Leu  
                           260                          265                          270  
 Leu Gln Ala Ser Leu Asp Pro Ser Val Thr His Leu Met Gly Leu Phe  
  
                           275                          280                          285  
 Glu Pro Gly Asp Met Lys Tyr Glu Ile His Arg Asp Ser Thr Leu Asp  
                           290                          295                          300  
 Pro Ser Leu Met Glu Met Thr Glu Ala Ala Leu Leu Leu Leu Ser Arg  
 305                          310                          315                          320  
 Asn Pro Arg Gly Phe Phe Leu Phe Val Glu Gly Gly Arg Ile Asp His  
                           325                          330                          335

Gly His His Glu Ser Arg Ala Tyr Arg Ala Leu Thr Glu Thr Ile Met  
 340 345 350

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

Thr Leu Ser Leu Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Ser Phe Gly  
 370 375 380

Gly Tyr Pro Leu Arg Gly Ser Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro Gly Lys  
 385 390 395 400

Ala Arg Asp Arg Lys Ala Tyr Thr Val Leu Leu Tyr Gly Asn Gly Pro  
 405 410 415

Gly Tyr Val Leu Lys Asp Gly Ala Arg Pro Asp Val Thr Glu Ser Glu  
 420 425 430

Ser Gly Ser Pro Glu Tyr Arg Gln Gln Ser Ala Val Pro Leu Asp Gly  
 435 440 445

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

Ala His Leu Val His Gly Val Gln Glu Gln Thr Phe Ile Ala His Val  
 465 470 475 480

Met Ala Phe Ala Ala Cys Leu Glu Pro Tyr Thr Ala Cys Asp Leu Ala  
 485 490 495

Pro Arg Ala Gly Thr Thr Asp Ala Ala His Pro Gly Pro Ser Val Val  
 500 505 510

Pro Ala Leu Leu Pro Leu Leu Ala Gly Thr Leu Leu Leu Leu Gly Thr  
 515 520 525

Ala Thr Ala Pro  
 530

- <210> 17
- <211> 535
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <400> 17

Met Leu Gly Pro Cys Met Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gly Leu Arg

1                    5                    10                    15  
 Leu Gln Leu Ser Leu Gly Ile Ile Pro Val Glu Glu Glu Asn Pro Asp  
  
                   20                    25                    30  
 Phe Trp Asn Arg Glu Ala Ala Glu Ala Leu Gly Ala Ala Lys Lys Leu  
                   35                    40                    45  
 Gln Pro Ala Gln Thr Ala Ala Lys Asn Leu Ile Ile Phe Leu Gly Asp  
                   50                    55                    60  
 Gly Met Gly Val Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln  
                   65                    70                    75                    80  
 Lys Lys Asp Lys Leu Gly Pro Glu Ile Pro Leu Ala Met Asp Arg Phe  
                   85                    90                    95  
  
 Pro Tyr Val Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Val Asp Lys His Val Pro  
                   100                    105                    110  
 Asp Ser Gly Ala Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Gly Asn  
                   115                    120                    125  
 Phe Gln Thr Ile Gly Leu Ser Ala Ala Ala Arg Phe Asn Gln Cys Asn  
                   130                    135                    140  
 Thr Thr Arg Gly Asn Glu Val Ile Ser Val Met Asn Arg Ala Lys Lys  
                   145                    150                    155                    160  
 Ala Gly Lys Ser Val Gly Val Val Thr Thr Thr Arg Val Gln His Ala  
  
                   165                    170                    175  
 Ser Pro Ala Gly Thr Tyr Ala His Thr Val Asn Arg Asn Trp Tyr Ser  
                   180                    185                    190  
 Asp Ala Asp Val Pro Ala Ser Ala Arg Gln Glu Gly Cys Gln Asp Ile  
                   195                    200                    205  
 Ala Thr Gln Leu Ile Ser Asn Met Asp Ile Asp Val Ile Leu Gly Gly  
                   210                    215                    220  
 Gly Arg Lys Tyr Met Phe Arg Met Gly Thr Pro Asp Pro Glu Tyr Pro  
                   225                    230                    235                    240  
  
 Asp Asp Tyr Ser Gln Gly Gly Thr Arg Leu Asp Gly Lys Asn Leu Val  
                   245                    250                    255

Gln Glu Trp Leu Ala Lys Arg Gln Gly Ala Arg Tyr Val Trp Asn Arg  
 260 265 270

Thr Glu Leu Met Gln Ala Ser Leu Asp Pro Ser Val Thr His Leu Met  
 275 280 285

Gly Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Lys Tyr Glu Ile His Arg Asp Ser  
 290 295 300

Thr Leu Asp Pro Ser Leu Met Glu Met Thr Glu Ala Ala Leu Arg Leu  
 305 310 315 320

Leu Ser Arg Asn Pro Arg Gly Phe Phe Leu Phe Val Glu Gly Gly Arg  
 325 330 335

Ile Asp His Gly His His Glu Ser Arg Ala Tyr Arg Ala Leu Thr Glu  
 340 345 350

Thr Ile Met Phe Asp Asp Ala Ile Glu Arg Ala Gly Gln Leu Thr Ser  
 355 360 365

Glu Glu Asp Thr Leu Ser Leu Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe  
 370 375 380

Ser Phe Gly Gly Tyr Pro Leu Arg Gly Ser Ser Ile Phe Gly Leu Ala  
 385 390 395 400

Pro Gly Lys Ala Arg Asp Arg Lys Ala Tyr Thr Val Leu Leu Tyr Gly  
 405 410 415

Asn Gly Pro Gly Tyr Val Leu Lys Asp Gly Ala Arg Pro Asp Val Thr  
 420 425 430

Glu Ser Glu Ser Gly Ser Pro Glu Tyr Arg Gln Gln Ser Ala Val Pro  
 435 440 445

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

Gly Pro Gln Ala His Leu Val His Gly Val Gln Glu Gln Thr Phe Ile  
 465 470 475 480

Ala His Val Met Ala Phe Ala Ala Cys Leu Glu Pro Tyr Thr Ala Cys  
 485 490 495

Asp Leu Ala Pro Pro Ala Gly Thr Thr Asp Ala Ala His Pro Gly Arg  
 500 505 510

Ser Val Val Pro Ala Leu Leu Pro Leu Leu Ala Gly Thr Leu Leu Leu  
 515 520 525  
  
 Leu Glu Thr Ala Thr Ala Pro  
 530 535  
 <210> 18  
 <211> 532  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 18  
 Met Gln Gly Pro Trp Val Leu Leu Leu Leu Gly Leu Arg Leu Gln Leu  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Gly Ile Ile Pro Val Glu Glu Glu Asn Pro Asp Phe Trp Asn  
 20 25 30  
 Arg Gln Ala Ala Glu Ala Leu Gly Ala Ala Lys Lys Leu Gln Pro Ala  
 35 40 45  
  
 Gln Thr Ala Ala Lys Asn Leu Ile Ile Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly  
 50 55 60  
 Val Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Lys Lys Asp  
 65 70 75 80  
 Lys Leu Gly Pro Glu Thr Phe Leu Ala Met Asp Arg Phe Pro Tyr Val  
 85 90 95  
 Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Ser Val Asp Lys His Val Pro Asp Ser Gly  
 100 105 110  
 Ala Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Gly Asn Phe Gln Thr  
 115 120 125  
 Ile Gly Leu Ser Ala Ala Ala Arg Phe Asn Gln Cys Asn Thr Thr Arg  
 130 135 140  
 Gly Asn Glu Val Ile Ser Val Met Asn Arg Ala Lys Lys Ala Gly Lys  
 145 150 155 160  
 Ser Val Gly Val Val Thr Thr Thr Arg Val Gln His Ala Ser Pro Ala  
 165 170 175  
 Gly Ala Tyr Ala His Thr Val Asn Arg Asn Trp Tyr Ser Asp Ala Asp



Ser Gly Ser Pro Glu Tyr Arg Gln Gln Ser Ala Val Pro Leu Asp Gly  
 435 440 445

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

Ala His Leu Val His Gly Val Gln Glu Gln Thr Phe Ile Ala His Val  
 465 470 475 480

Met Ala Phe Ala Ala Cys Leu Glu Pro Tyr Thr Ala Cys Asp Leu Ala  
 485 490 495

Pro Arg Ala Gly Thr Thr Asp Ala Ala His Pro Gly Pro Ser Val Val  
 500 505 510

Pro Ala Leu Leu Pro Leu Leu Ala Gly Thr Leu Leu Leu Leu Gly Thr  
 515 520 525

Ala Thr Ala Pro  
 530

<210> 19  
 <211> 528  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 19

Met Gln Gly Pro Trp Val Leu Leu Leu Leu Gly Leu Arg Leu Gln Leu

1 5 10 15  
 Ser Leu Gly Val Ile Pro Ala Glu Glu Glu Asn Pro Ala Phe Trp Asn  
 20 25 30

Arg Gln Ala Ala Glu Ala Leu Asp Ala Ala Lys Lys Leu Gln Pro Ile  
 35 40 45

Gln Lys Val Ala Lys Asn Leu Ile Leu Phe Leu Gly Asp Gly Leu Gly  
 50 55 60

Val Pro Thr Val Thr Ala Thr Arg Ile Leu Lys Gly Gln Lys Asn Gly  
 65 70 75 80

Lys Leu Gly Pro Glu Thr Pro Leu Ala Met Asp Arg Phe Pro Tyr Leu  
 85 90 95

Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Val Asp Arg Gln Val Pro Asp Ser Ala





Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser

130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

210 215 220

Pro Gly Lys

225