



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117357524 A

(43) 申请公布日 2024. 01. 09

(21) 申请号 202311285883.0

A61P 13/12 (2006.01)

(22) 申请日 2018.05.30

(30) 优先权数据

62/512,458 2017.05.30 US

62/626,953 2018.02.06 US

(62) 分案原申请数据

201880043564.X 2018.05.30

(71) 申请人 阿米库斯治疗学公司

地址 美国宾夕法尼亚州

(72) 发明人 杰夫·卡斯特利

(74) 专利代理机构 北京律诚同业知识产权代理

有限公司 11006

专利代理师 徐金国 吴启超

(51) Int. Cl.

A61K 31/445 (2006.01)

权利要求书1页 说明书45页

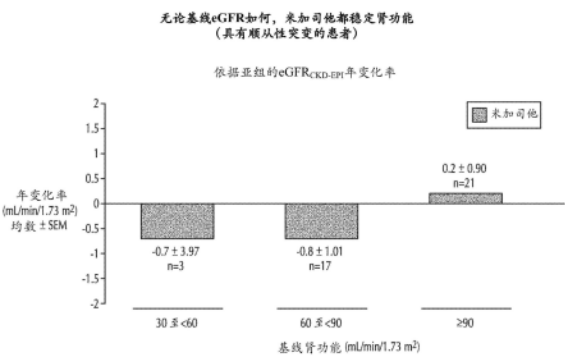
序列表(电子公布) 附图24页

(54) 发明名称

治疗具有肾损害的法布里患者的方法

(57) 摘要

提供了用于治疗具有肾损害和/或蛋白尿升高的患者的法布里病的方法。某些方法包括以每隔一天一次的频率向该患者施用约100至约150mg游离碱当量的米加司他或其盐。某些方法还提供了稳定该患者的肾功能、降低其左心室质量指数、降低其血浆球丙糖酰基鞘氨醇和/或增加其 α -半乳糖苷酶A活性。



1. 一种增加被诊断为患有法布里病且具有肾损害的患者白细胞(WBC) α -半乳糖苷酶A (α -Gal A) 活性的方法, 该方法包括以每隔一天一次的频率向该患者施用有效量的米加司他或其盐, 其中该有效量为约100mg至约150mg游离碱当量(FBE), 并且其中施用该米加司他或其盐有效增加该患者的WBC α -Gal A活性。

2. 如权利要求1所述的方法, 其中该患者具有轻度或中度肾损害。

3. 如权利要求1所述的方法, 其中该患者具有轻度肾损害。

4. 如权利要求1所述的方法, 其中该患者具有中度肾损害。

5. 如权利要求1所述的方法, 其中该患者具有重度肾损害。

6. 如权利要求1-5中任一项所述的方法, 其中该患者是已经历酶替代疗法(ERT)的患者。

7. 如权利要求1-5中任一项所述的方法, 其中该患者是酶替代疗法(ERT)初治患者。

8. 如权利要求1-5中任一项所述的方法, 其中在开始施用该米加司他或其盐之前, 该患者的蛋白尿水平低于100mg/24hr。

9. 如权利要求1-5中任一项所述的方法, 其中在施用该米加司他或其盐24个月后, 向具有中度肾损害的一组ERT初治患者施用有效量的米加司他或其盐提供至少约1 4MU/hr/mg的WBC α -Gal A活性的平均增加。

10. 如权利要求1-5中任一项所述的方法, 其中在施用该米加司他或其盐18个月后, 向具有中度肾损害的一组已经历ERT的患者施用有效量的米加司他或其盐提供至少约1 4MU/hr/mg的WBC α -Gal A活性的平均增加。

治疗具有肾损害的法布里患者的方法

本申请为2018年5月30日递交的申请号为201880043564.X,发明名称为“治疗具有肾损害的法布里患者的方法”的发明专利申请的分案申请。

技术领域

[0001] 本发明的原理和实施例总体上涉及药理学伴侣用于治疗法布里病(特别是在具有不同程度肾损害的患者中)的用途。

背景技术

[0002] 许多人类疾病由导致蛋白质氨基酸序列变化的突变引起,这些变化降低蛋白质稳定性并且可能阻止其正确折叠。蛋白质通常在称为内质网或ER的细胞的特定区域折叠。细胞具有质量控制机制,其确保蛋白质在它们可以从ER移动到细胞中的适当目的地(一个通常称为蛋白质运输的过程)之前被折叠成它们正确的三维形状。错误折叠的蛋白质通常在最初保留在ER中后通过质量控制机制消除。在某些情况下,错误折叠的蛋白质可以在被消除之前积累在ER中。错误折叠的蛋白质在ER中的保留打断了它们的正确运输,并且所得的降低的生物活性可能导致细胞功能受损并最终导致疾病。另外,错误折叠的蛋白质在ER中的积累可能导致对细胞的各种类型的压力,这也可能促成细胞的功能障碍和疾病。

[0003] 此类突变可能导致溶酶体贮积障碍(LSD),其特征由于编码溶酶体酶的基因突变而导致的溶酶体酶缺乏。由而发生的疾病导致那些酶的底物的病理性积累,这些底物包括脂质、碳水化合物和多糖。尽管有与每种LSD相关的许多不同的突变基因型,但是许多突变是错义突变,其可能导致产生较不稳定的酶。这些较不稳定的酶有时通过ER相关的降解途径过早降解。这导致溶酶体中的酶缺乏以及底物的病理性积累。此类突变酶有时在相关领域中被称为“折叠突变体”或“构象突变体”。

[0004] 法布里病是一种由GLA基因突变导致的LSD,该基因编码酶 α -半乳糖苷酶A(α -Gal A)。 α -Gal A是鞘糖脂代谢所需的。突变导致底物球形三酰神经酰胺(GL-3)积累在各种组织和器官中。患有法布里病的男性是半合子,因为这些疾病基因在X染色体上编码。法布里病估计会影响40,000和60,000名男性中的1名,并且在女性中发生频率较低。

[0005] 已经有几种治疗法布里病的途径。用于治疗法布里病的一种批准的疗法是酶替代疗法(ERT),其通常涉及静脉内输注经纯化形式的相应野生型蛋白质。两种 α -Gal A产品目前可用于治疗法布里病: α -半乳糖苷酶(Replagal®,希雷人基因治疗公司(Shire Human Genetic Therapies)) and β -半乳糖苷酶(Fabrazyme®;赛诺菲健赞公司(Sanofi Genzyme Corporation))。然而,ERT有几个缺点。ERT的主要并发症之一是所输注蛋白质的快速降解,这导致需要大量的昂贵的高剂量输注。ERT具有若干另外的警告,例如难以大规模生产、纯化和储存正确折叠的蛋白质;获得糖基化的天然蛋白质;产生抗蛋白质免疫反应;以及蛋白质无法穿过血脑屏障以减轻中枢神经系统病状(即,低生物利用度)。另外,替代酶不能以足够的量渗透心脏或肾脏,以减少肾足细胞或心肌细胞中的底物积累,这在法布里病状中表现突出。

[0006] 治疗一些酶缺乏的另一种方法涉及使用小分子抑制剂来减少缺陷型酶蛋白的天然底物的产生,从而改善病状。已经针对包括糖鞘脂贮积障碍在内的一类约40种LSD具体描述了这种“底物减少”方法。提出用作疗法的小分子抑制剂特异性地抑制参与糖脂合成的酶,从而减少需要由缺陷酶分解的细胞糖脂的量。

[0007] 治疗法布里病的第三种方法是用所谓的药理学伴侣(PC)进行治疗。此类PC包括 α -Gal A的小分子抑制剂,其可以与 α -Gal A结合以增加突变酶和相应的野生型的稳定性。

[0008] 当前治疗的一个问题是难以治疗表现出肾损害的患者,肾损害在法布里患者中非常普遍并且随着疾病而进展。平均而言,患者从正常的肾功能下降到重度肾损害需要约10-20年,并且一些国家报告的下降速度甚至更快。依据一些估计,接受ERT的法布里患者中约有10%可能具有中度肾损害。接受ERT的另外25%的男性和5%的女性的估算的肾小球滤过率(eGFR)低于30,这对应于重度肾脏损害或甚至肾衰竭。其中,约一半具有重度肾脏损害,并且约一半接受透析。

[0009] 不幸的是,尽管有ERT治疗,肾损害仍会进展。eGFR为30的患者可能会在两到五年内恶化为需要透析的程度。接受ERT的患者中约有30%将最终接受透析或需要进行肾移植,这取决于ERT的开始。ERT开始地越早,肾功能可以被保留的时间越长,但是由于法布里病是罕见的并且经常被误诊,因此ERT的开始可能会延迟。

[0010] 此外,并且如上所讨论,ERT通常不能充分渗透肾脏以减少底物积累,从而在疾病进展期间允许进一步的损害。在PC治疗中,肾脏通常是从体内清除药物的方式,而肾损害可能会影响药物的药代动力学和/或药物的药效学。因此,仍然需要治疗具有肾损害的法布里患者。

发明内容

[0011] 本发明的不同方面涉及使用米加司他(migalastat)来治疗具有肾损害和/或蛋白尿升高的法布里患者。这种治疗可以包括稳定患者的肾功能、降低其左心室质量指数(LVMI)、降低其血浆球丙糖酰基鞘氨醇(globotriaosylsphingosine)(溶血Gb₃)和/或增加其 α -Gal A活性。

[0012] 本发明的一个方面涉及一种用于治疗具有肾损害的法布里病的方法,该方法包括以每隔一天一次的频率向该患者施用有效量的米加司他或其盐。在一个或多个实施例中,该有效量为约100mg至约150mg游离碱当量(FBE)。

[0013] 在一个或多个实施例中,该患者具有轻度或中度肾损害。

[0014] 在一个或多个实施例中,该患者具有轻度肾损害。

[0015] 在一个或多个实施例中,该患者具有中度肾损害。

[0016] 在一个或多个实施例中,该患者具有重度肾损害。

[0017] 在一个或多个实施例中,该患者是已经历ERT的患者。

[0018] 在一个或多个实施例中,该患者是ERT初治(naïve)患者。

[0019] 在一个或多个实施例中,在开始施用该米加司他或其盐之前,该患者的蛋白尿水平低于100mg/24hr。

[0020] 在一个或多个实施例中,在开始施用该米加司他或其盐之前,该患者的蛋白尿水平为100至1,000mg/24hr。

- [0021] 在一个或多个实施例中,在开始施用该米加司他或其盐之前,该患者的蛋白尿水平高于1,000mg/24hr。
- [0022] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐增强该患者的 α -Gal A活性。在一个或多个实施例中,该 α -Gal A活性是白细胞(WBC) α -Gal A活性。
- [0023] 在一个或多个实施例中,施用该米加司他或其盐有效降低该患者的LVMi。
- [0024] 在一个或多个实施例中,施用该米加司他或其盐有效稳定该患者的血浆溶血Gb₃。
- [0025] 在一个或多个实施例中,施用该米加司他或其盐有效稳定该患者的肾功能。
- [0026] 在一个或多个实施例中,该有效量为约123mg FBE。
- [0027] 在一个或多个实施例中,该有效量为约123mg的米加司他游离碱。
- [0028] 在一个或多个实施例中,米加司他的该盐是米加司他盐酸盐。
- [0029] 在一个或多个实施例中,该有效量为约150mg的米加司他盐酸盐。
- [0030] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐呈口服剂型。在一个或多个实施例中,该口服剂型包含片剂、胶囊剂或溶液剂。
- [0031] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐施用至少28天。
- [0032] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐施用至少6个月。
- [0033] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐施用至少12个月。
- [0034] 本发明的另一个方面涉及米加司他稳定被诊断为患有法布里病且具有肾损害的患者的肾功能的用途。在不同实施例中,该方法包括以每隔一天一次的频率向该患者施用约100mg至约150mg FBE的米加司他或其盐。
- [0035] 在一个或多个实施例中,该患者具有轻度或中度肾损害。
- [0036] 在一个或多个实施例中,该患者具有轻度肾损害。
- [0037] 在一个或多个实施例中,该患者具有中度肾损害。
- [0038] 在一个或多个实施例中,该患者具有重度肾损害。
- [0039] 在一个或多个实施例中,该患者是已经历ERT的患者。
- [0040] 在一个或多个实施例中,该患者是ERT初治患者。
- [0041] 在一个或多个实施例中,在开始施用该米加司他或其盐之前,该患者的蛋白尿水平低于100mg/24hr。
- [0042] 在一个或多个实施例中,在开始施用该米加司他或其盐之前,该患者的蛋白尿水平为100至1,000mg/24hr。
- [0043] 在一个或多个实施例中,在开始施用该米加司他或其盐之前,该患者的蛋白尿水平高于1,000mg/24hr。
- [0044] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐增强 α -Gal A活性。
- [0045] 在一个或多个实施例中,该有效量为约123mg FBE。
- [0046] 在一个或多个实施例中,该有效量为约123mg的米加司他游离碱。
- [0047] 在一个或多个实施例中,米加司他的该盐是米加司他盐酸盐。
- [0048] 在一个或多个实施例中,该有效量为约150mg的米加司他盐酸盐。
- [0049] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐呈口服剂型。在一个或多个实施例中,该口服剂型包含片剂、胶囊剂或溶液剂。
- [0050] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐施用至少28天。

- [0051] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐施用至少6个月。
- [0052] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐施用至少12个月。
- [0053] 在一个或多个实施例中,向具有轻度或中度肾损害的一组患者施用有效量的米加司他或其盐提供大于 $-1.0\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ 的 $\text{eGFR}_{\text{CKD-EPI}}$ 平均年变化率。
- [0054] 在一个或多个实施例中,向具有轻度肾损害的一组患者施用有效量的米加司他或其盐提供大于 $-1.0\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ 的 $\text{eGFR}_{\text{CKD-EPI}}$ 平均年变化率。
- [0055] 在一个或多个实施例中,向具有中度肾损害的一组患者施用有效量的米加司他或其盐提供大于 $-1.0\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ 的 $\text{eGFR}_{\text{CKD-EPI}}$ 平均年变化率。
- [0056] 本发明的另一个方面涉及米加司他稳定被诊断为患有法布里病且具有肾损害的患者的血浆溶血 Gb_3 的用途。在不同实施例中,该方法包括以每隔一天一次的频率向该患者施用约100mg至约150mg FBE的米加司他或其盐。
- [0057] 在一个或多个实施例中,该患者具有轻度或中度肾损害。
- [0058] 在一个或多个实施例中,该患者具有轻度肾损害。
- [0059] 在一个或多个实施例中,该患者具有中度肾损害。
- [0060] 在一个或多个实施例中,该患者具有重度肾损害。
- [0061] 在一个或多个实施例中,该患者是已经历ERT的患者。
- [0062] 在一个或多个实施例中,该患者是ERT初治患者。
- [0063] 在一个或多个实施例中,在开始施用该米加司他或其盐之前,该患者的蛋白尿水平低于100mg/24hr。
- [0064] 在一个或多个实施例中,在开始施用该米加司他或其盐之前,该患者的蛋白尿水平为100至1,000mg/24hr。
- [0065] 在一个或多个实施例中,在开始施用该米加司他或其盐之前,该患者的蛋白尿水平高于1,000mg/24hr。
- [0066] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐增强 α -Gal A活性。
- [0067] 在一个或多个实施例中,该有效量为约123mg FBE。
- [0068] 在一个或多个实施例中,该有效量为约123mg的米加司他游离碱。
- [0069] 在一个或多个实施例中,米加司他的该盐是米加司他盐酸盐。
- [0070] 在一个或多个实施例中,该有效量为约150mg的米加司他盐酸盐。
- [0071] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐呈口服剂型。在一个或多个实施例中,该口服剂型包含片剂、胶囊剂或溶液剂。
- [0072] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐施用至少28天。
- [0073] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐施用至少6个月。
- [0074] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐施用至少12个月。
- [0075] 在一个或多个实施例中,在施用该米加司他或其盐24个月后,向具有中度肾损害的一组ERT初治患者施用有效量的米加司他或其盐提供至少约5nmol/L的血浆溶血 Gb_3 的平均降低。
- [0076] 本发明的另一个方面涉及米加司他降低被诊断为患有法布里病且具有肾损害的患者的LVMi的用途。在不同实施例中,该方法包括以每隔一天一次的频率向该患者施用约100mg至约150mg FBE的米加司他或其盐。

- [0077] 在一个或多个实施例中,该患者具有轻度或中度肾损害。
- [0078] 在一个或多个实施例中,该患者具有轻度肾损害。
- [0079] 在一个或多个实施例中,该患者具有中度肾损害。
- [0080] 在一个或多个实施例中,该患者具有重度肾损害。
- [0081] 在一个或多个实施例中,该患者是已经历ERT的患者。
- [0082] 在一个或多个实施例中,该患者是ERT初治患者。
- [0083] 在一个或多个实施例中,在开始施用该米加司他或其盐之前,该患者的蛋白尿水平低于100mg/24hr。
- [0084] 在一个或多个实施例中,在开始施用该米加司他或其盐之前,该患者的蛋白尿水平为100至1,000mg/24hr。
- [0085] 在一个或多个实施例中,在开始施用该米加司他或其盐之前,该患者的蛋白尿水平高于1,000mg/24hr。
- [0086] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐增强 α -Gal A活性。
- [0087] 在一个或多个实施例中,该有效量为约123mg FBE。
- [0088] 在一个或多个实施例中,该有效量为约123mg的米加司他游离碱。
- [0089] 在一个或多个实施例中,米加司他的该盐是米加司他盐酸盐。
- [0090] 在一个或多个实施例中,该有效量为约150mg的米加司他盐酸盐。
- [0091] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐呈口服剂型。在一个或多个实施例中,该口服剂型包含片剂、胶囊剂或溶液剂。
- [0092] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐施用至少28天。
- [0093] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐施用至少6个月。
- [0094] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐施用至少12个月。
- [0095] 在一个或多个实施例中,在施用该米加司他或其盐24个月后,向具有中度肾损害的一组ERT初治患者施用有效量的米加司他或其盐提供至少约2g/m²的LVMI的平均降低。
- [0096] 在一个或多个实施例中,在施用该米加司他或其盐18个月后,向具有中度肾损害的一组已经历ERT的患者施用有效量的米加司他或其盐提供至少约2g/m²的LVMI的平均降低。
- [0097] 本发明的另一个方面涉及米加司他增加被诊断为患有法布里病且具有肾损害的患者的WBC α -Gal A活性的用途。在不同实施例中,该方法包括以每隔一天一次的频率向该患者施用约100mg至约150mg FBE的米加司他或其盐。
- [0098] 在一个或多个实施例中,该患者具有轻度或中度肾损害。
- [0099] 在一个或多个实施例中,该患者具有轻度肾损害。
- [0100] 在一个或多个实施例中,该患者具有中度肾损害。
- [0101] 在一个或多个实施例中,该患者具有重度肾损害。
- [0102] 在一个或多个实施例中,该患者是已经历ERT的患者。
- [0103] 在一个或多个实施例中,该患者是ERT初治患者。
- [0104] 在一个或多个实施例中,在开始施用该米加司他或其盐之前,该患者的蛋白尿水平低于100mg/24hr。
- [0105] 在一个或多个实施例中,在开始施用该米加司他或其盐之前,该患者的蛋白尿水

平为100至1,000mg/24hr。

[0106] 在一个或多个实施例中,在开始施用该米加司他或其盐之前,该患者的蛋白尿水平高于1,000mg/24hr。

[0107] 在一个或多个实施例中,该有效量为约123mg FBE。

[0108] 在一个或多个实施例中,该有效量为约123mg的米加司他游离碱。

[0109] 在一个或多个实施例中,米加司他的该盐是米加司他盐酸盐。

[0110] 在一个或多个实施例中,该有效量为约150mg的米加司他盐酸盐。

[0111] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐呈口服剂型。在一个或多个实施例中,该口服剂型包含片剂、胶囊剂或溶液剂。

[0112] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐施用至少28天。

[0113] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐施用至少6个月。

[0114] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐施用至少12个月。

[0115] 在一个或多个实施例中,在施用该米加司他或其盐24个月后,向具有中度肾损害的一组ERT初治患者施用有效量的米加司他或其盐提供至少约1 4MU/hr/mg的WBC α -Gal A活性的平均增加。

[0116] 在一个或多个实施例中,在施用该米加司他或其盐18个月后,向具有中度肾损害的一组已经历ERT的患者施用有效量的米加司他或其盐提供至少约1 4MU/hr/mg的WBC α -Gal A活性的平均增加。

[0117] 本发明的另一个方面涉及米加司他稳定被诊断为患有法布里病且具有蛋白尿升高的患者的肾功能的用途。在不同实施例中,该方法包括以每隔一天一次的频率向该患者施用约100mg至约150mg FBE的米加司他或其盐。

[0118] 在一个或多个实施例中,该患者具有轻度或中度肾损害。

[0119] 在一个或多个实施例中,该患者具有轻度肾损害。

[0120] 在一个或多个实施例中,该患者具有中度肾损害。

[0121] 在一个或多个实施例中,该患者具有重度肾损害。

[0122] 在一个或多个实施例中,该患者是已经历ERT的患者。

[0123] 在一个或多个实施例中,该患者是ERT初治患者。

[0124] 在一个或多个实施例中,在开始施用该米加司他或其盐之前,该患者的蛋白尿水平为100至1,000mg/24hr。

[0125] 在一个或多个实施例中,在开始施用该米加司他或其盐之前,该患者的蛋白尿水平高于1,000mg/24hr。

[0126] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐增强 α -Gal A活性。

[0127] 在一个或多个实施例中,该有效量为约123mg FBE。

[0128] 在一个或多个实施例中,该有效量为约123mg的米加司他游离碱。

[0129] 在一个或多个实施例中,米加司他的该盐是米加司他盐酸盐。

[0130] 在一个或多个实施例中,该有效量为约150mg的米加司他盐酸盐。

[0131] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐呈口服剂型。在一个或多个实施例中,该口服剂型包含片剂、胶囊剂或溶液剂。

[0132] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐施用至少28天。

- [0133] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐施用至少6个月。
- [0134] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐施用至少12个月。
- [0135] 在一个或多个实施例中,向在开始施用该米加司他或其盐之前蛋白尿水平为100至1,000mg/24hr的一组患者施用有效量的米加司他或其盐提供大于 $-2.0\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ 的 $\text{eGFR}_{\text{CKD-EPI}}$ 平均年变化率。
- [0136] 在一个或多个实施例中,向在开始施用该米加司他或其盐之前蛋白尿水平高于1,000mg/24hr的一组患者施用有效量的米加司他或其盐提供大于 $-5.0\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ 的 $\text{eGFR}_{\text{CKD-EPI}}$ 平均年变化率。
- [0137] 本发明的另一个方面涉及一种用于治疗具有蛋白尿升高的患者的法布里病的方法,该方法包括以每隔一天一次的频率向该患者施用有效量的米加司他或其盐。在一个或多个实施例中,该有效量为约100mg至约150mg FBE。
- [0138] 在一个或多个实施例中,该患者具有轻度或中度肾损害。
- [0139] 在一个或多个实施例中,该患者具有轻度肾损害。
- [0140] 在一个或多个实施例中,该患者具有中度肾损害。
- [0141] 在一个或多个实施例中,该患者具有重度肾损害。
- [0142] 在一个或多个实施例中,该患者是已经历ERT的患者。
- [0143] 在一个或多个实施例中,该患者是ERT初治患者。
- [0144] 在一个或多个实施例中,在开始施用该米加司他或其盐之前,该患者的蛋白尿水平为100至1,000mg/24hr。
- [0145] 在一个或多个实施例中,在开始施用该米加司他或其盐之前,该患者的蛋白尿水平高于1,000mg/24hr。
- [0146] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐增强 α -Gal A活性。
- [0147] 在一个或多个实施例中,该有效量为约123mg FBE。
- [0148] 在一个或多个实施例中,该有效量为约123mg的米加司他游离碱。
- [0149] 在一个或多个实施例中,米加司他的该盐是米加司他盐酸盐。
- [0150] 在一个或多个实施例中,该有效量为约150mg的米加司他盐酸盐。
- [0151] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐呈口服剂型。在一个或多个实施例中,该口服剂型包含片剂、胶囊剂或溶液剂。
- [0152] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐施用至少28天。
- [0153] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐施用至少6个月。
- [0154] 在一个或多个实施例中,该米加司他或其盐施用至少12个月。
- [0155] 在一个或多个实施例中,向在开始施用该米加司他或其盐之前蛋白尿水平为100至1,000mg/24hr的一组患者施用有效量的米加司他或其盐提供大于 $-2.0\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ 的 $\text{eGFR}_{\text{CKD-EPI}}$ 平均年变化率。
- [0156] 在一个或多个实施例中,向在开始施用该米加司他或其盐之前蛋白尿水平高于1,000mg/24hr的一组患者施用有效量的米加司他或其盐提供大于 $-5.0\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ 的 $\text{eGFR}_{\text{CKD-EPI}}$ 平均年变化率。
- [0157] 下面列出了不同实施例。应当理解,下面列出的实施例可以不仅如下所列进行组合,而且可以根据本发明的范围以其他合适的组合进行组合。

附图说明

- [0158] 图1A显示了随 CL_{CR} 变化的具有不同程度肾损害的非法布里患者的米加司他血浆浓度；
- [0159] 图1B显示了随给药后时间变化的具有不同程度肾损害的非法布里患者的米加司他血浆浓度；
- [0160] 图1C显示了具有不同程度肾损害的非法布里患者的曲线下面积 (AUC)；
- [0161] 图2显示了随时间变化的具有中度至重度肾损害的患者的米加司他浓度；
- [0162] 图3显示了48小时后具有不同程度肾损害的非法布里患者的 $AUC_{0-\infty}$ 和米加司他浓度之间的相关性；
- [0163] 图4显示了48小时后随 $eGFR_{MDRD}$ 变化的具有不同程度肾损害的非法布里患者和具有肾损害的两名法布里患者的血浆米加司他浓度；
- [0164] 图5显示了具有不同程度肾损害的非法布里患者和具有肾损害的两名法布里患者的血浆 $AUC_{0-\infty}$ ；
- [0165] 图6A-6D分别显示了正常、重度、轻度和中度肾损害受试者的模拟中值和观察到的米加司他浓度与时间的关系；
- [0166] 图7A-7D分别显示了正常、轻度、中度和重度肾损害受试者的模拟 C_{max} 、AUC、 C_{min} 和 C_{48} ；
- [0167] 图8A-8D分别显示了正常、重度、轻度和中度肾损害受试者的QOD的稳态预测；
- [0168] 图9A-9D分别显示了正常、轻度、中度和重度肾损害受试者的 C_{max} 、AUC、 C_{min} 和 C_{48} ；
- [0169] 图10A-10B显示了调查米加司他在法布里患者中的用途的两项研究的研究设计；
- [0170] 图11显示了具有正常肾功能以及轻度和中度肾损害的接受米加司他疗法的法布里患者的 $eGFR_{CKD-EPI}$ 的年变化率；
- [0171] 图12A-12B分别显示了具有正常肾功能和肾损害的接受的米加司他疗法和ERT的法布里患者的 $eGFR_{CKD-EPI}$ 和 $mGFR_{\text{碘酞醇}}$ 的年变化率；
- [0172] 图13显示了具有正常肾功能以及轻度和中度肾损害的接受米加司他疗法和ERT的法布里患者的 $eGFR_{CKD-EPI}$ 的年变化率；
- [0173] 图14A-14E显示了人野生型GLA基因的完整DNA序列 (SEQ ID NO:1)；并且
- [0174] 图15显示了野生型GLA蛋白 (SEQ ID NO:2)。

具体实施方式

[0175] 在描述本发明的若干示例性实施例之前,应当理解,本发明不限于以下描述中列出的构建或方法步骤的细节。本发明能够有其他的实施例,并且能够以不同的方式实施或进行。

[0176] 已经令人惊讶地发现,在具有轻度和中度肾损害的法布里患者中,米加司他疗法稳定肾功能,降低LVMi,降低血浆溶血Gb₃并且增加WBC α -Gal A活性。因此,本发明的不同方面涉及用于具有肾损害的法布里患者的米加司他的特定给药方案。米加司他是一种用于治疗法布里病的药理学伴侣。这种药理学伴侣通常通过肾脏从体内清除。然而,具有肾损害(法布里患者的一种常见问题)的患者可能无法从体内清除米加司他,并且以前不知道同时患有法布里病和肾损害的患者对米加司他疗法的反应如何。由于药理学伴侣也是抑制剂,

很难平衡诸如米加司他等药理学伴侣的酶增强和抑制作用。此外,由于法布里病与肾功能之间的复杂相互作用以及对药理学伴侣作用的认识的缺乏,在没有重要临床数据和/或计算机建模的情况下,难以确定具有肾损害的法布里患者的米加司他给药。

[0177] 因此,本发明的方面涉及使用米加司他或其盐治疗具有肾损害和/或蛋白尿升高的法布里患者的方法,例如通过稳定该患者的肾功能、降低其LVMi、降低其血浆溶血Gb₃和/或增加其 α -Gal A活性。

[0178] 在一个或多个实施例中,该方法包括以每隔一天一次的频率向该患者施用约100mg至约150mg FBE的米加司他或其盐。该患者可能具有轻度、中度或重度肾损害。在一个或多个实施例中,该患者具有轻度或中度肾损害。在特定实施例中,该患者具有轻度肾损害。在其他特定实施例中,该患者具有中度肾损害。

[0179] 定义

[0180] 在本说明书中使用的术语在本发明的上下文中以及在使用每个术语的特定上下文中通常具有其在本领域中的普通含义。某些术语在下文或在本说明书的其他地方讨论,以向从业者提供描述本发明的组合物和方法以及如何制备和使用它们的另外指导。

[0181] 术语“法布里病”是指由于缺乏溶酶体 α -Gal A活性而导致的鞘糖脂分解代谢的X连锁先天错误。这种缺陷导致底物球形三酰神经酰胺(“GL-3”,也称为Gb₃或神经酰胺己三糖苷)和相关的鞘糖脂在心脏、肾脏、皮肤和其他组织的血管内皮溶酶体中积累。该酶的另一底物是血浆球丙糖酰基鞘氨醇(“血浆溶血Gb₃”)。

[0182] “携带者”是一名女性,其具有一个有缺陷型 α -Gal A基因的X染色体和一个有正常基因的X染色体,并且其中一种或多种细胞类型中存在正常等位基因的X染色体失活。携带者通常被诊断为患有法布里病。

[0183] “患者”是指已经被诊断为患有或疑似患有特定疾病的受试者。患者可以是人或动物。

[0184] “法布里患者”是指已经被诊断为患有或疑似患有法布里病并且具有如下进一步定义的突变的 α -Gal A的个体。法布里病的特征标记能以相同的发生率出现在男性半合子和女性携带者中,但是女性受到的影响通常不太严重。

[0185] 术语“ERT初治患者”是指从未接受ERT或在开始米加司他疗法前至少6个月未接受ERT的法布里患者。

[0186] 术语“已经历ERT的患者”是指就在开始米加司他疗法之前接受ERT的法布里患者。在一些实施例中,已经历ERT的患者就在开始米加司他疗法之前已经接受了至少12个月的ERT。

[0187] 人 α -半乳糖苷酶A(α -Gal A)是指由人GLA基因编码的酶。包括内含子和外显子的 α -Gal A的完整DNA序列可在GenBank登录号X14448.1中获得,并显示于SEQ ID NO:1和图14A-14E中。人 α -Gal A酶由429个氨基酸组成,并且可在GenBank登录号X14448.1和U78027.1中获得,并显示于SEQ ID NO:2和图15中。

[0188] 术语“突变蛋白质”包括在编码该蛋白质的基因中具有突变的蛋白质,该突变导致该蛋白质在通常存在于ER中的条件下不能达到稳定构象。不能达到稳定构象导致大量的酶被降解,而不是被转运到溶酶体。这样一种突变有时称为“构象突变体”。此类突变包括但不限于错义突变以及框内小缺失和插入。

[0189] 如本文在一个实施例中所用,术语“突变 α -Gal A”包括在编码 α -Gal A的基因中具有突变的 α -Gal A,该突变导致该酶在通常存在于ER中的条件下不能达到稳定构象。不能达到稳定构象导致大量的酶被降解,而不是被转运到溶酶体。

[0190] 如本文所用,术语“特异性药理学伴侣”(“SPC”)或“药理学伴侣”(“PC”)是指特异性地结合蛋白质并具有一种或多种以下作用的任何分子,包括小分子、蛋白质、肽、核酸、碳水化合物等:(i) 增强该蛋白质的稳定分子构象的形成;(ii) 诱导该蛋白质从ER运输到另一个细胞位置(优选地天然细胞位置),即防止该蛋白质的ER相关的降解;(iii) 防止错误折叠的蛋白质的聚集;和/或(iv) 恢复或增强该蛋白质的至少部分野生型功能和/或活性。特异性地结合例如 α -Gal A的化合物意味着它与该酶结合并对该酶而不是相关或不相关的酶的群组施加伴侣效应。更具体地,这个术语不是指代内源伴侣例如BiP,或指代对不同蛋白质表现非特异性伴侣活性的非特异性试剂例如甘油、DMSO或氧化水,即化学伴侣。在本发明的一个或多个实施例中,PC可以是可逆的竞争性抑制剂。

[0191] 酶的“竞争性抑制剂”可以指代在结构上类似于酶底物的化学结构和分子几何形状以在与底物大致相同的位置结合酶的化合物。因此,抑制剂与底物分子竞争相同的活性位点,从而增加 K_m 。如果足够的底物分子可用于取代抑制剂,竞争性抑制通常是可逆的,即竞争性抑制剂可以可逆地结合。因此,酶抑制的量取决于抑制剂浓度、底物浓度以及抑制剂和底物对活性位点的相对亲和力。

[0192] 如本文所用,术语“特异性地结合”是指药理学伴侣与蛋白质例如 α -Gal A的相互作用,特别是与该蛋白质的氨基酸残基的相互作用,这些氨基酸残基直接参与接触药理学伴侣。药理学伴侣特异性地结合靶蛋白(例如, α -Gal A),以对该蛋白质而不是相关或不相关的蛋白质的群组施加伴侣效应。与任何给定的药理学伴侣相互作用的蛋白质的氨基酸残基可以在或可以不在蛋白质的“活性位点”内。可以通过常规结合测定或通过结构研究(例如,共结晶、NMR等)评估特异性结合。 α -Gal A的活性位点是底物结合位点。

[0193] “缺陷型 α -Gal A活性”是指来自患者的细胞中的 α -Gal A活性,与(使用相同的方法)不患有或没有疑似患有法布里或任何其他疾病(尤其是血液病)的正常个体中的活性相比,其低于正常范围。

[0194] 如本文所用,术语“增强 α -Gal A活性”或“增加 α -Gal A活性”是指相对于在不与对 α -Gal A具有特异性的药理学伴侣接触的细胞(优选是相同细胞类型或相同细胞,例如,在较早的时间)中的量,在与对 α -Gal A具有特异性的药理学伴侣接触的细胞中增加采用稳定构象的 α -Gal A的量。这个术语还指代相对于在不与对蛋白质具有特异性的药理学伴侣接触的情况下的 α -Gal A的运输,增加 α -Gal A向与对 α -Gal A具有特异性的药理学伴侣接触的细胞中的溶酶体中的运输。这些术语同时指代野生型和突变 α -Gal A。在一个实施例中,细胞中 α -Gal A的量的增加是通过测量来自已经用PC处理的细胞的裂解物中人工底物的水解来测量。水解的增加表明 α -Gal A活性增加。

[0195] 术语“ α -Gal A活性”是指细胞中野生型 α -Gal A的正常生理功能。例如, α -Gal A活性包括GL-3的水解。

[0196] “响应者”是被诊断为患有或疑似患有溶酶体贮积障碍(例如像法布里病)的个体,响应于接触PC,其细胞分别表现出足够增加的 α -Gal A活性和/或症状的减轻或替代标记的增强。法布里替代标记的增强的非限制性实例是溶血Gb₃和美国专利申请公开号US2010/

0113517中披露的那些,将该申请通过引用以其整体特此结合。

[0197] 在US2010/0113517中披露的法布里病的替代标记的改善的非限制性实例包括细胞(例如,成纤维细胞)和组织中 α -Gal A水平或活性的增加;GL-3积累的减少;同型半胱氨酸和血管细胞粘附分子-1(VCAM-1)的血浆浓度降低;心肌细胞和瓣膜纤维细胞内GL-3积累减少;血浆溶血Gb₃的降低;心脏肥大(特别是左心室肥大)的减少、瓣膜功能不全和心律失常的改善;蛋白尿的改善;诸如CTH、乳糖神经酰胺、神经酰胺等脂质的尿液浓度降低,并且葡萄糖神经酰胺和鞘磷脂的尿液浓度增加;肾小球上皮细胞中无层状包涵体(斑马小体);肾功能的改善;少汗症的减轻;无血管角质瘤;以及诸如高频感觉神经性听力丧失、进行性听力丧失、突发性耳聋或耳鸣等听力异常的改善。神经症状的改善包括短暂性脑缺血发作(TIA)或中风的预防;以及自身表现为肢端感觉异常(四肢灼痛或刺痛)的神经性疼痛的改善。可以针对法布里病进行评估的另一种类型的临床标记是有害的心血管表现的发生率。法布里病的常见心脏相关征象和症状包括左心室肥大、瓣膜疾病(尤其是二尖瓣脱垂和/或反流)、早发性冠状动脉疾病、心绞痛、心肌梗塞、传导异常、心律失常、充血性心力衰竭。

[0198] 如本文所用,短语“稳定肾功能”和类似术语尤其是指减少肾功能的下降和/或恢复肾功能。由于未经治疗的法布里患者的肾功能预期会显著下降,因此肾功能恶化速率的改善和/或肾功能的改善证明了如本文所述的米加司他疗法的益处。具体而言,无论肾功能的严重程度如何并且无论是ERT初治还是已经历ERT,稳定肾功能可以在法布里患者中表现为当与未用本发明的疗法治疗的类似患者相比时改善肾功能或延迟肾功能的恶化速率,例如,对于一个具体患者群体高达 $0.2\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ 。与未治疗(无伴侣或ERT治疗)或ERT治疗相比,本文披露的治疗方法的优点在于,用本发明治疗的法布里患者表现出他的或她的肾功能下降较少或没有下降。例如,最初使用ERT治疗可能观察到改善,但是在疗法的最初两年或三年后,经ERT治疗的患者的肾功能经历急剧下降,与ERT治疗前观察到的下降程度相似。相比之下,本文所述的疗法更有效地清除溶酶体GL-3,并且已经显示出其在预期不会改善的患者中(例如,在已经历ERT的患者中)引起改善(例如,参见实例5)。到目前为止,即使在治疗后两年之后,使用本文所述疗法的临床数据也预期持续改善患者的预后。因此,在一些实施例中,用本文所述疗法治疗的患者在治疗后持续稳定肾功能超过两年(例如,通过改善患者的肾小球滤过率(GFR)或延迟其GFR的下降速率)。

[0199] “肾损害”是指患者的GFR小于 $90\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ 。用于从血清肌酐计算估算的肾小球滤过率(eGFR)的两个最常用的方程是慢性肾脏病流行病学合作研究(CKD-EPI)方程和肾脏疾病饮食调整(MDRD),其分别被称为 $\text{eGFR}_{\text{CKD-EPI}}$ 和 $\text{eGFR}_{\text{MDRD}}$ 。慢性肾脏病的严重程度已经以六个阶段定义:

- a. (阶段0) 肾功能正常-GFR高于 $90\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ 并且无蛋白尿;
- b. (阶段1) -GFR高于 $90\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ 且有肾脏损害的证据;
- c. (阶段2) (轻度) -GFR为60至 $89\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ 且有肾脏损害的证据;
- d. (阶段3) (中度) -GFR为30至 $59\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$;
- e. (阶段4) (重度) -GFR为15至 $29\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$;
- f. (阶段5) 肾衰竭-GFR小于 $15\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ 。

[0200] “蛋白尿升高”是指尿蛋白水平高于正常范围。尿蛋白的正常范围是每天0-150mg,因此蛋白尿升高是尿蛋白水平为每天约150mg。

[0201] 如本文所用,短语“稳定血浆溶血Gb₃”和类似术语是指减少血浆溶血Gb₃的增加和/或减少血浆溶血Gb₃。由于未经治疗的法布里患者的血浆溶血Gb₃预期会显著增加,因此血浆溶血Gb₃积累速率的改善和/或血浆溶血Gb₃的改善证明了如本文所述的米加司他疗法的益处。

[0202] 实现一个或多个上述反应的剂量是“治疗有效剂量”。

[0203] 短语“药学上可接受的”是指分子实体和组合物是生理上可耐受的并且当施用人时通常不会产生不良反应。在一些实施例中,如本文所用,术语“药学上可接受的”是指由联邦或州政府的管理机构批准的或者在美国药典或其他普遍认可的药典中列出的用于在动物体内、更特别是在人体内使用。就药物载体而论的术语“载体”是指与化合物一起施用的稀释剂、辅助剂、赋形剂或媒介物。此类药物载体可以是无菌液体,例如水和油类。优选地应用水或水溶液盐溶液以及右旋糖和甘油水溶液作为载体,特别是用于可注射溶液。合适的药物载体描述于由E.W.Martin编辑的“Remington's Pharmaceutical Sciences[雷明顿药物科学]”,第18版或其他版本中。

[0204] 术语“酶替代疗法”或“ERT”是指将非天然的经纯化的酶引入缺乏这种酶的个体。施用的蛋白质可以从自然来源或通过重组表达而获得(如下文更详细描述)。该术语也指代将经纯化的酶引入个体,该个体原本需要或受益于施用经纯化的酶,例如该个体遭受酶不足。所引入的酶可以是在体外产生的经纯化的重组酶,或从离体组织或体液(例如像胎盘或动物奶)或从植物纯化的蛋白质。

[0205] 如本文所用,术语“分离的”意味着将参比材料从其通常发现的环境中去除。因此,分离的生物材料可以不含细胞组分,即发现或产生该材料的细胞的组分。在核酸分子的情况下,分离的核酸包括PCR产物、凝胶上的mRNA条带、cDNA或限制性片段。在另一个实施例中,分离的核酸优选地从可以在其被发现的染色体上切除,并且更优选地不再与非调节性非编码区连接,或与位于当在染色体中发现时由分离的核酸分子包含的基因上游或下游的其他基因连接。在又一个实施例中,分离的核酸缺少一个或多个内含子。分离的核酸包括插入质粒、粘粒、人工染色体等中的序列。因此,在一个特定实施例中,重组核酸是分离的核酸。分离的蛋白质可以与其在细胞中结合的其他蛋白质或核酸或两者结合,或者如果其是膜结合蛋白质则与细胞膜结合。将分离的细胞器、细胞或组织从其在生物体中发现的解剖部位去除。分离的材料可以是但不必是纯化的。

[0206] 术语“约”和“大约”通常意指在给定测量的性质或精度的情况下测量的量的可接受的误差程度。典型的示例性误差程度在给定值或值范围的20%以内、优选地在10%以内、更优选地在5%以内。可替代地,特别是在生物系统中,术语“约”和“大约”可以意指在给定值的一个数量级内、优选地在10倍或5倍内、更优选地在2倍内的值。除非另有说明,本文给出的数字量是近似的,意味着当没有明确说明时,可以推断出术语“约”或“大约”。

[0207] 如本文所用,术语“游离碱当量”或“FBE”是指米加司他或其盐中存在的米加司他的量。换句话说,术语“FBE”意指一个量的米加司他游离碱,抑或由米加司他的盐提供的当量的米加司他游离碱。例如,由于盐酸盐的重量,150mg的米加司他盐酸盐仅提供和123mg的游离碱形式的米加司他所提供的同样多的米加司他。预期其他盐具有不同的转换因子,这取决于盐的分子量。

[0208] 除非有相反的确切说明,术语“米加司他”涵盖米加司他游离碱或其药学上可接受

的盐(例如,米加司他HCl)。

[0209] 法布里病

[0210] 法布里病是一种罕见的、进行性的和破坏性的X连锁溶酶体贮积障碍。GLA基因的突变导致溶酶体酶 α -Gal A(其是鞘糖脂代谢所需的)的缺乏。从生命的早期开始, α -Gal A活性的降低导致鞘糖脂(包括GL-3和血浆溶血Gb₃)的积累,并且导致法布里病的症状和生命限制性后遗症,包括疼痛、胃肠道症状、肾衰竭、心肌病、脑血管事件和早期死亡。早期开始疗法和终身治疗提供了减慢疾病进展和延长预期寿命的机会。

[0211] 法布里病涵盖广泛的疾病严重程度和发病年龄,尽管它传统上被分为2种主要表型,即“经典型”和“迟发型”。经典型表型主要已经归于具有不可检测的至低的 α -Gal A活性和肾、心脏和/或脑血管表现的更早发作的男性。迟发型表型主要已经归于具有更高残留 α -Gal A活性和这些疾病表现的更晚发作的男性。杂合性女性携带者通常表达迟发型表型,但是取决于X染色体失活的模式,也可以显示经典型表型。

[0212] 已经鉴定出超过800种导致法布里病的GLA突变。大约60%是错义突变,导致 α -Gal A酶中的单氨基酸取代。错义GLA突变通常导致异常折叠的和不稳定形式的 α -Gal A的产生,并且大多数与经典型表型相关。内质网中的正常细胞质量控制机制阻断了这些异常蛋白质转运到溶酶体上,并且将这些异常蛋白质作为过早降解和消除的目标。许多错义突变形式是米加司他(α -Gal A特异性药理学伴侣)的靶标。

[0213] 法布里病的临床表现具有广泛的严重程度,并且与患者的残留 α -GAL水平大致相关。大多数目前治疗的患者被称为经典型法布里病患者,其中大多数是男性。这些患者经历各种器官(包括肾脏、心脏和脑)的疾病,其中疾病症状首先出现在青春期,并且通常严重程度不断进展,直到生命的第四或第五个十年死亡为止。许多最近的研究表明,存在大量未确诊的男性和女性,他们具有一系列通常首次出现在成年期的法布里病症状,例如心脏或肾功能受损和中风。患有这种类型的法布里病(称为迟发型法布里病)的个体与经典型法布里病患者相比倾向于具有更高的残留 α -GAL水平。患有迟发型法布里病的个体通常在成年期首次经历疾病症状,并且疾病症状通常集中在单个器官,例如左心室的扩大或进行性肾衰竭。另外,迟发型法布里病也可能以未知原因的中风形式出现。

[0214] 法布里病患者具有进行性肾脏损害,并且未经治疗的患者到生命的第五个十年之前表现出末期肾损害。 α -Gal A活性的缺乏导致GL-3和相关的鞘糖脂在许多细胞类型(包括肾脏中的细胞)中积累。GL-3积累在足细胞、上皮细胞以及远端小管和亨利氏环的管状细胞中。肾功能损害可以表现为蛋白尿和肾小球滤过率降低。

[0215] 由于法布里病可能导致肾功能进行性恶化,了解潜在治疗剂在具有肾损害的个体体内的药代动力学(PK)是重要的,特别是对于主要通过肾排泄清除的治疗剂而言。肾功能损害可能导致治疗剂积聚到有毒的水平。

[0216] 由于法布里病罕见,涉及多个器官,发病年龄范围广,并且是异质性的,正确诊断是一个挑战。医疗保健专业人员中的意识较低,并且误诊频繁。一旦患者有症状,加上突变分析,法布里病的诊断最常基于血浆或外周白细胞(WBC)中降低的 α -Gal A活性来证实。在女性中,诊断甚至更具挑战性,因为携带者女性的酶鉴定由于携带者的一些细胞中的随机X染色体失活而不太可靠。例如,一些肯定携带者(受经典型影响的男性的女儿)具有从正常到非常低活性范围的 α -Gal A酶活性。由于携带者在白细胞中可以具有正常的 α -Gal A酶活

性,所以仅通过遗传学检验鉴定 α -Gal A突变提供了精确的携带者鉴定和/或诊断。

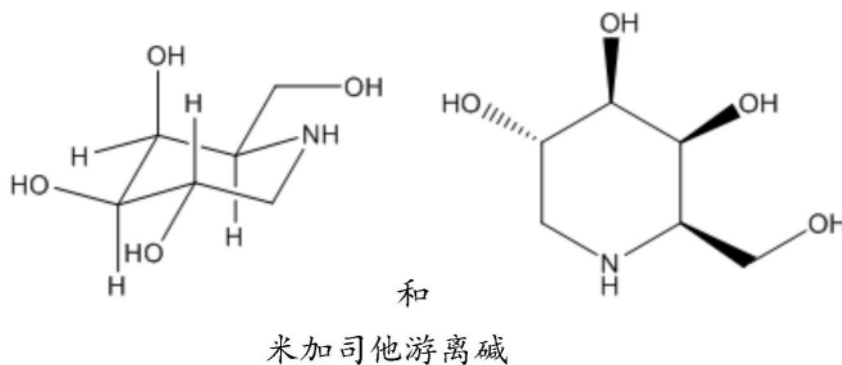
[0217] 被认为顺从米加司他的突变形式的 α -半乳糖苷酶A被定义为,当突变形式的 α -半乳糖苷酶A在HEK-293细胞中表达时(称为“HEK测定”),根据良好实验室规范(Good Laboratory Practice, GLP)验证的体外测定(GLP HEK或米加司他顺从性测定(Migalastat Amenability Assay)),显示 ≥ 1.20 倍的相对增加(+10 μ M米加司他)和 $\geq 3.0\%$ 野生型的绝对增加(+10 μ M米加司他)。此类突变在本文中也称为“HEK测定顺从性”突变。

[0218] 已经提供以前的筛选方法,其在开始治疗之前评估酶增强。例如,使用HEK-293细胞的测定已经在临床试验中用于预测给定的突变是否响应于药理学伴侣(例如,米加司他)治疗。在这个测定中,建立了cDNA构建体。相应的 α -Gal A突变形式在HEK-293细胞中瞬时表达。然后将细胞 $\pm$ 米加司他(17nM至1mM)孵育4至5天。之后,在细胞裂解物中使用合成的荧光底物(4-MU- α -Gal)或通过蛋白质印迹测量 α -Gal A水平。这已经针对已知的导致疾病的错义或小的框内插入/缺失突变进行。在美国专利号8,592,362中列出了使用这些方法以前鉴定为响应于PC(例如米加司他)的突变,将该专利通过引用以其整体特此并入。

[0219] 药理学伴侣

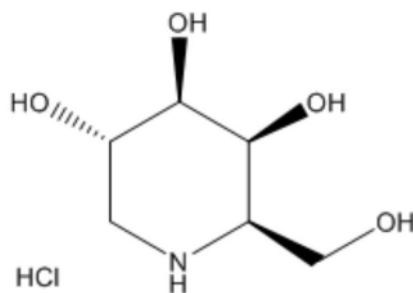
[0220] 与LSD相关的酶的小分子抑制剂的结合可以增加突变酶和相应的野生型酶的稳定性(参见美国专利号6,274,597;6,583,158;6,589,964;6,599,919;6,916,829和7,141,582,全部通过引用并入本文)。特别地,葡萄糖和半乳糖的小分子衍生物(其是若干靶溶酶体酶的特异性的选择性竞争性抑制剂)的施用有效地增加了体外细胞中酶的稳定性,并且因此增加了酶到溶酶体的运输。因此,通过增加溶酶体中酶的量,酶底物的水解预期会增加。这种策略背后的原有理论如下:因为突变酶蛋白在ER中不稳定(Ishii等人, Biochem. Biophys. Res. Comm. [生物化学与生物物理学研究通讯] 1996;220:812-815),酶蛋白在正常转运途径(ER $\rightarrow$ 高尔基体 $\rightarrow$ 内体 $\rightarrow$ 溶酶体)中受阻并过早降解。因此,结合突变酶并增加其稳定性的化合物可以充当酶的“伴侣”,并且增加可以离开ER并移动到溶酶体的量。另外,由于一些野生型蛋白质的折叠和运输是不完全的,并且在一些情况下,一些野生型蛋白质的多达70%在达到其最终细胞位置之前被降解,这些伴侣可以用于稳定野生型酶,并且增加可以离开ER并被运输到溶酶体的酶的量。

[0221] 在一个或多个实施例中,该药理学伴侣包含米加司他或其盐。化合物米加司他(也称为1-脱氧半乳糖野尻霉素(1-DGJ)或(2R,3S,4R,5S)-2-(羟甲基)哌啶-3,4,5-三醇)是具有以下化学式的化合物:



[0222] 如本文所讨论,米加司他的药学上可接受的盐也可以用于本发明。当使用米加司他的盐时,调整该盐的剂量,这样使得由患者接受的米加司他的剂量与使用米加司他游离

碱时接受的量是相当的。米加司他的药学上可接受的盐的一个实例是米加司他HCl:



米加司他 HCl

[0223] 米加司他是一种低分子量亚氨基糖,并且是GL-3末端半乳糖的类似物。体外和体内药理学研究已经证明,米加司他充当药理学伴侣,以高亲和力选择性地且可逆地结合野生型 α -Gal A和特定突变形式的 α -Gal A的活性位点,这些特定突变形式的基因型被称为HEK测定顺从性突变。米加司他结合稳定了内质网中这些突变形式的 α -Gal A,从而有助于其正确地运输到溶酶体上,在溶酶体上米加司他的解离允许 α -Gal A降低GL-3和其他底物的水平。大约30%-50%的法布里病患者具有HEK测定顺从性突变;其中大多数与疾病的经典型表型相关。HEK测定顺从性突变的列表至少包括下表1中列出的那些突变。在一个或多个实施例中,如果双重突变存在于同一染色体(男性和女性)上,则如果该双重突变存在于表1中的一个条目中(例如,D55V/Q57L),该患者被认为是HEK测定顺从性的。在一些实施例中,如果双重突变存在于不同染色体(仅在女性中)上,则如果个体突变中的任一个存在于表1中,则该患者被认为是HEK测定顺从性的。除了下表1之外,也可以在批准使用GALAFOLD™的各个国家的GALAFOLD™的产品特征和/或处方信息的总结中,或者在网站www.galafoldamenabilitytable.com上找到HEK测定顺从性突变,将其各自通过引用以其整体特此并入。

表1

核苷酸变化	核苷酸变化	蛋白质序列变化
c.7C>G	c.C7G	L3V
c.8T>C	c.T8C	L3P
c.[11G>T;620A>C]	c.G11T/A620C	R4M/Y207S
c.37G>A	c.G37A	A13T
c.37G>C	c.G37C	A13P
c.43G>A	c.G43A	A15T
c.44C>G	c.C44G	A15G
c.53T>G	c.T53G	F18C
c.58G>C	c.G58C	A20P
c.59C>A	c.C59A	A20D
c.70T>C或c.70T>A	c.T70C或c.T70A	W24R
c.70T>G	c.T70G	W24G
c.72G>C或c.72G>T	c.G72C或c.G72T	W24C
c.95T>C	c.T95C	L32P
c.97G>T	c.G97T	D33Y

c.98A>G	c.A98G	D33G
c.100A>G	c.A100G	N34D
c.101A>C	c.A101C	N34T
c.101A>G	c.A101G	N34S
c.102T>G或c.102T>A	c.T102G或c.T102A	N34K
c.103G>C或c.103G>A	c.G103C或c.G103A	G35R
c.104G>A	c.G104A	G35E
c.104G>T	c.G104T	G35V
c.107T>C	c.T107C	L36S
c.107T>G	c.T107G	L36W
c.108G>C或c.108G>T	c.G108C或c.G108T	L36F
c.109G>A	c.G109A	A37T
c.110C>T	c.C110T	A37V
c.122C>T	c.C122T	T41I

表1

核苷酸变化	核苷酸变化	蛋白质序列变化
c.124A>C 或 c.124A>T	c.A124C 或 c.A124T	M42L
c.124A>G	c.A124G	M42V
c.125T>A	c.T125A	M42K
c.125T>C	c.T125C	M42T
c.125T>G	c.T125G	M42R
c.126G>A 或 c.126G>C 或 c.126G>T	c.G126A 或 c.G126C 或 c.G126T	M42I
c.137A>C	c.A137C	H46P
c.142G>C	c.G142C	E48Q
c.152T>A	c.T152A	M51K
c.153G>A 或 c.153G>T 或 c.153G>C	c.G153A 或 c.G153T 或 c.G153C	M51I
c.157A>G	c.A157G	N53D
c.[157A>C; 158A>T]	c.A157C/A158T	N53L
c.160C>T	c.C160T	L54F
c.161T>C	c.T161C	L54P
c.164A>G	c.A164G	D55G
c.164A>T	c.A164T	D55V
c.[164A>T; 170A>T]	c.A164T/A170T	D55V/Q57L
c.167G>T	c.G167T	C56F
c.167G>A	c.G167A	C56Y
c.170A>T	c.A170T	Q57L
c.175G>A	c.G175A	E59K
c.178C>A	c.C178A	P60T
c.178C>T	c.C178T	P60S
c.179C>T	c.C179T	P60L
c.196G>A	c.G196A	E66K
c.197A>G	c.A197G	E66G

表1

核苷酸变化	核苷酸变化	蛋白质序列变化
c.207C>A 或 c.207C>G	c.C207A 或 c.C207G	F69L
c.214A>G	c.A214G	M72V
c.216G>A 或 c.216G>T 或 c.216G>C	c.G216A 或 c.G216T 或 c.G216C	M72I
c.218C>T	c.C218T	A73V
c.227T>C	c.T227C	M76T
c.239G>A	c.G239A	G80D
c.247G>A	c.G247A	D83N
c.253G>A	c.G253A	G85S
c.254G>A	c.G254A	G85D
c.[253G>A; 254G>A]	c.G253A/G254A	G85N
c.[253G>A; 254G>T; 255T>G]	c.G253A/G254T/T255G	G85M
c.261G>C 或 c.261G>T	c.G261C 或 c.G261T	E87D
c.265C>T	c.C265T	L89F
c.272T>C	c.T272C	I91T
c.288G>A 或 c.288G>T 或 c.288G>C	c.G288A 或 c.G288T 或 c.G288C	M96I
c.289G>C	c.G289C	A97P
c.290C>T	c.C290T	A97V
c.305C>T	c.C305T	S102L
c.311G>T	c.G311T	G104V
c.316C>T	c.C316T	L106F
c.322G>A	c.G322A	A108T
c.326A>G	c.A326G	D109G
c.334C>G	c.C334G	R112G
c.335G>A	c.G335A	R112H
c.337T>A	c.T337A	F113I

表1

核苷酸变化	核苷酸变化	蛋白质序列变化
c.337T>C 或 c.339T>A 或 c.339T>G	c.T337C 或 c.T339A 或 c.T339G	F113L
c.352C>T	c.C352T	R118C
c.361G>A	c.G361A	A121T
c.368A>G	c.A368G	Y123C
c.373C>T	c.C373T	H125Y
c.374A>T	c.A374T	H125L
c.376A>G	c.A376G	S126G
c.383G>A	c.G383A	G128E
c.399T>G	c.T399G	I133M
c.404C>T	c.C404T	A135V
c.408T>A 或 c.408T>G	c.T408A 或 c.T408G	D136E
c.416A>G	c.A416G	N139S
c.419A>C	c.A419C	K140T
c.427G>A	c.G427A	A143T
c.431G>A	c.G431A	G144D
c.431G>T	c.G431T	G144V
c.434T>C	c.T434C	F145S
c.436C>T	c.C436T	P146S
c.437C>G	c.C437G	P146R
c.454T>C	c.T454C	Y152H
c.455A>G	c.A455G	Y152C
c.466G>A	c.G466A	A156T
c.467C>T	c.C467T	A156V
c.471G>C 或 c.471G>T	c.G471C 或 c.G471T	Q157H
c.484T>G	c.T484G	W162G
c.493G>C	c.G493C	D165H
c.494A>G	c.A494G	D165G

表1

核苷酸变化	核苷酸变化	蛋白质序列变化
c.[496C>G; 497T>G]	c.C496G/T497G	L166G
c.496C>G	c.C496G	L166V
c.496_497delinsTC	c.496_497delinsTC	L166S
c.499C>G	c.C499G	L167V
c.506T>C	c.T506C	F169S
c.511G>A	c.G511A	G171S
c.520T>C	c.T520C	C174R
c.520T>G	c.T520G	C174G
c.525C>G 或 c.525C>A	c.C525G 或 c.C525A	D175E
c.539T>G	c.T539G	L180W
c.540G>C	c.G540C	L180F
c.548G>C	c.G548C	G183A
c.548G>A	c.G548A	G183D
c.550T>A	c.T550A	Y184N
c.551A>G	c.A551G	Y184C
c.553A>G	c.A553G	K185E
c.559A>G	c.A559G	M187V
c.559_564dup	c.559_564dup	p.M187_S188dup
c.560T>C	c.T560C	M187T
c.561G>T 或 c.561G>A 或 c.561G>C	c.G561T 或 c.G561A 或 c.G561C	M187I
c.572T>A	c.T572A	L191Q
c.581C>T	c.C581T	T194I
c.584G>T	c.G584T	G195V
c.586A>G	c.A586G	R196G
c.593T>C	c.T593C	I198T
c.595G>A	c.G595A	V199M
c.596T>C	c.T596C	V199A

表1

核苷酸变化	核苷酸变化	蛋白质序列变化
c.596T>G	c.T596G	V199G
c.599A>G	c.A599G	Y200C

c.602C>T	c.C602T	S201F
c.602C>A	c.C602A	S201Y
c.608A>T	c.A608T	E203V
c.609G>C或c.609G>T	c.G609C或c.G609T	E203D
c.613C>A	c.C613A	P205T
c.613C>T	c.C613T	P205S
c.614C>T	c.C614T	P205L
c.619T>C	c.T619C	Y207H
c.620A>C	c.A620C	Y207S
c.623T>G	c.T623G	M208R
c.628C>T	c.C628T	P210S
c.629C>T	c.C629T	P210L
c.638A>G	c.A638G	K213R
c.638A>T	c.A638T	K213M
c.640C>T	c.C640T	P214S
c.641C>T	c.C641T	P214L
c.643A>G	c.A643G	N215D
c.644A>G	c.A644G	N215S
c.644A>T	c.A644T	N215I
c.[644A>G;937G>T]	c.A644G/G937T	N215S/D313Y
c.646T>G	c.T646G	Y216D
c.647A>G	c.A647G	Y216C
c.655A>C	c.A655C	I219L
c.656T>A	c.T656A	I219N
c.656T>C	c.T656C	I219T
c.659G>A	c.G659A	R220Q

表1

核苷酸变化	核苷酸变化	蛋白质序列变化
c.659G>C	c.G659C	R220P
c.662A>C	c.A662C	Q221P
c.671A>C	c.A671C	N224T
c.671A>G	c.A671G	N224S
c.673C>G	c.C673G	H225D
c.683A>G	c.A683G	N228S
c.687T>A或c.687T>G	c.T687A或c.T687G	F229L
c.695T>C	c.T695C	I232T
c.713G>A	c.G713A	S238N
c.716T>C	c.T716C	I239T
c.720G>C或c.720G>T	c.G720C或c.G720T	K240N

c.724A>G	c.A724G	I242V
c.724A>T	c.A724T	I242F
c.725T>A	c.T725A	I242N
c.725T>C	c.T725C	I242T
c.728T>G	c.T728G	L243W
c.729G>C或c.729G>T	c.G729C或c.G729T	L243F
c.730G>A	c.G730A	D244N
c.730G>C	c.G730C	D244H
c.733T>G	c.T733G	W245G
c.740C>G	c.C740G	S247C
c.747C>G或c.747C>A	c.C747G或c.C747A	N249K
c.749A>C	c.A749C	Q250P
c.749A>G	c.A749G	Q250R
c.750G>C	c.G750C	Q250H
c.758T>C	c.T758C	I253T
c.758T>G	c.T758G	I253S
c.760-762delGTT	c.760_762delGTT	p.V254del

表1

核苷酸变化	核苷酸变化	蛋白质序列变化
c.769G>C	c.G769C	A257P
c.770C>G	c.C770G	A257G
c.772G>C或c.772G>A	c.G772C或c.G772A	G258R
c.773G>T	c.G773T	G258V
c.776C>G	c.C776G	P259R
c.776C>T	c.C776T	P259L
c.779G>A	c.G779A	G260E
c.779G>C	c.G779C	G260A
c.781G>A	c.G781A	G261S
c.781G>C	c.G781C	G261R
c.781G>T	c.G781T	G261C
c.788A>G	c.A788G	N263S
c.790G>T	c.G790T	D264Y
c.794C>T	c.C794T	P265L
c.800T>C	c.T800C	M267T
c.805G>A	c.G805A	V269M
c.806T>C	c.T806C	V269A
c.809T>C	c.T809C	I270T
c.810T>G	c.T810G	I270M
c.811G>A	c.G811A	G271S

c.[811G>A;937G>T]	c.G811A/G937T	G271S/D313Y
c.812G>A	c.G812A	G271D
c.823C>G	c.C823G	L275V
c.827G>A	c.G827A	S276N
c.829T>G	c.T829G	W277G
c.831G>T或c.831G>C	c.G831T或c.G831C	W277C
c.832A>T	c.A832T	N278Y
c.835C>G	c.C835G	Q279E

表1

核苷酸变化	核苷酸变化	蛋白质序列变化
c.838C>A	c.C838A	Q280K
c.840A>T 或 c.840A>C	c.A840T 或 c.A840C	Q280H
c.844A>G	c.A844G	T282A
c.845C>T	c.C845T	T282I
c.850A>G	c.A850G	M284V
c.851T>C	c.T851C	M284T
c.860G>T	c.G860T	W287L
c.862G>C	c.G862C	A288P
c.866T>G	c.T866G	I289S
c.868A>C 或 c.868A>T	c.A868C 或 c.A868T	M290L
c.869T>C	c.T869C	M290T
c.870G>A 或 c.870G>C 或 c.870G>T	c.G870A 或 c.G870C 或 c.G870T	M290I
c.871G>A	c.G871A	A291T
c.877C>A	c.C877A	P293T
c.881T>C	c.T881C	L294S
c.884T>G	c.T884G	F295C
c.886A>G	c.A886G	M296V
c.886A>T 或 c.886A>C	c.A886T 或 c.A886C	M296L
c.887T>C	c.T887C	M296T
c.888G>A 或 c.888G>T 或 c.888G>C	c.G888A 或 c.G888T 或 c.G888C	M296I
c.893A>G	c.A893G	N298S
c.897C>G 或 c.897C>A	c.C897G 或 c.C897A	D299E
c.898C>T	c.C898T	L300F
c.899T>C	c.T899C	L300P
c.901C>G	c.C901G	R301G
c.902G>C	c.G902C	R301P

表1

核苷酸变化	核苷酸变化	蛋白质序列变化
c.902G>A	c.G902A	R301Q

c.902G>T	c.G902T	R301L
c.907A>T	c.A907T	I303F
c.908T>A	c.T908A	I303N
c.911G>A	c.G911A	S304N
c.911G>C	c.G911C	S304T
c.919G>A	c.G919A	A307T
c.922A>G	c.A922G	K308E
c.924A>T或c.924A>C	c.A924T或c.A924C	K308N
c.925G>C	c.G925C	A309P
c.926C>T	c.C926T	A309V
c.928C>T	c.C928T	L310F
c.931C>G	c.C931G	L311V
c.935A>G	c.A935G	Q312R
c.936G>T或c.936G>C	c.G936T或c.G936C	Q312H
c.937G>T	c.G937T	D313Y
c.[937G>T;1232G>A]	c.G937T/G1232A	D313Y/G411D
c.938A>G	c.A938G	D313G
c.946G>A	c.G946A	V316I
c.947T>G	c.T947G	V316G
c.950T>C	c.T950C	I317T
c.955A>T	c.A955T	I319F
c.956T>C	c.T956C	I319T
c.959A>T	c.A959T	N320I
c.962A>G	c.A962G	Q321R
c.962A>T	c.A962T	Q321L
c.963G>C或c.963G>T	c.G963C或c.G963T	Q321H
c.964G>A	c.G964A	D322N

表1

核苷酸变化	核苷酸变化	蛋白质序列变化
c.964G>C	c.G964C	D322H
c.966C>A或c.966C>G	c.C966A或c.C966G	D322E
c.968C>G	c.C968G	P323R
c.973G>A	c.G973A	G325S
c.973G>C	c.G973C	G325R
c.978G>C或c.978G>T	c.G978C或c.G978T	K326N
c.979C>G	c.C979G	Q327E
c.980A>T	c.A980T	Q327L
c.983G>C	c.G983C	G328A
c.989A>G	c.A989G	Q330R

c.1001G>A	c.G1001A	G334E
c.1010T>C	c.T1010C	F337S
c.1012G>A	c.G1012A	E338K
c.1016T>A	c.T1016A	V339E
c.1027C>A	c.C1027A	P343T
c.1028C>T	c.C1028T	P343L
c.1033T>C	c.T1033C	S345P
c.1046G>C	c.G1046C	W349S
c.1055C>G	c.C1055G	A352G
c.1055C>T	c.C1055T	A352V
c.1061T>A	c.T1061A	I354K
c.1066C>G	c.C1066G	R356G
c.1066C>T	c.C1066T	R356W
c.1067G>A	c.G1067A	R356Q
c.1067G>C	c.G1067C	R356P
c.1072G>C	c.G1072C	E358Q
c.1073A>C	c.A1073C	E358A
c.1073A>G	c.A1073G	E358G

表1

核苷酸变化	核苷酸变化	蛋白质序列变化
c.1074G>T或c.1074G>C	c.G1074T或c.G1074C	E358D
c.1076T>C	c.T1076C	I359T
c.1078G>A	c.G1078A	G360S
c.1078G>T	c.G1078T	G360C
c.1079G>A	c.G1079A	G360D
c.1082G>A	c.G1082A	G361E
c.1082G>C	c.G1082C	G361A
c.1084C>A	c.C1084A	P362T
c.1085C>T	c.C1085T	P362L
c.1087C>T	c.C1087T	R363C
c.1088G>A	c.G1088A	R363H
c.1102G>A	c.G1102A	A368T
c.1117G>A	c.G1117A	G373S
c.1124G>A	c.G1124A	G375E
c.1153A>G	c.A1153G	T385A
c.1168G>A	c.G1168A	V390M
c.1172A>C	c.A1172C	K391T
c.1184G>A	c.G1184A	G395E
c.1184G>C	c.G1184C	G395A

c.1192G>A	c.G1192A	E398K
c.1202_1203insGACTTC	c.1202_1203insGACTTC	p.T400_S401dup
c.1208T>C	c.T1208C	L403S
c.1225C>G	c.C1225G	P409A
c.1225C>T	c.C1225T	P409S
c.1225C>A	c.C1225A	P409T
c.1228A>G	c.A1228G	T410A
c.1229C>T	c.C1229T	T410I
c.1232G>A	c.G1232A	G411D

表1

核苷酸变化	核苷酸变化	蛋白质序列变化
c.1235C>A	c.C1235A	T412N
c.1253A>G	c.A1253G	E418G
c.1261A>G	c.A1261G	M421V

[0224] 法布里患者的肾功能

[0225] 肾功能的进行性下降是法布里病的主要并发症。例如,与经典型法布里表型相关的患者表现出进行性肾损害,其可能最终需要透析或肾移植。

[0226] 本领域常用的评估肾功能的方法是GFR。通常,GFR是每单位时间从肾小球毛细血管过滤到鲍曼氏囊中的流体体积。在临床上,基于血清中肌酐的清除率估算GFR。可以通过收集尿液以确定在给定时间间隔内从血液中去掉的肌酐量来估算GFR。年龄、体型和性别也被考虑进来。GFR数越低,肾脏损害越严重。

[0227] 一些研究表明,未经治疗的法布里患者经历GFR的在7.0和18.9mL/min/1.73m²/年之间的平均下降,而接受ERT的患者可能经历GFR的在2.0和2.7mL/min/1.73m²/年之间的平均下降,尽管蛋白尿更显著或慢性肾脏病更严重的患者下降可能更快。

[0228] 使用同位素稀释质谱法(IDMS)可追踪方程从血清肌酐计算估算的GFR(eGFR)。用于从血清肌酐估算肾小球滤过率(GFR)的两个最常用的方程是慢性肾脏病流行病学合作研究(CKD-EPI)方程和肾脏疾病饮食调整(MDRD)研究方程。MDRD研究和CKD-EPI方程均包括年龄、性别和种族的变量,尽管血清肌酐浓度似乎在正常参考区间内或略高于正常参考区间,但是这些变量可以允许提供者观察到CKD的存在。

[0229] CKD-EPI方程使用2斜率“样条曲线”来建模GFR与血清肌酐、年龄、性别和种族之间的关系。CKD-EPI方程表示为单个方程:

$$GFR = 141 \times \min(S_{cr}/\kappa, 1)^\alpha \times \max(S_{cr}/\kappa, 1) - 1.209 \times 0.993^{\text{年龄}} \times 1.018 [\text{如果是女性}] \times 1.159 [\text{如果是黑人}]$$

其中:

S_{cr} 是以mg/dL计的血清肌酐,

女性的 κ 为0.7且男性为0.9,

女性的 α 为-0.329且男性为-0.411,

min表示 S_{cr}/κ 的最小值或1,并且

max表示 S_{cr}/κ 的最大值或1。

[0230] 以下是IDMS可追踪MDRD研究方程(用于相对于IDMS参考方法校准的肌酐方法):

$$\text{GFR (mL/min/1.73m}^2\text{)} = 175 \times (\text{S}_{\text{cr}})^{-1.154} \times (\text{年龄})^{-0.203} \times (0.742, \text{如果是女性}) \times (1.212, \text{如果是非裔美国人})$$

[0231] 该方程不需要体重或身高变量,因为据报道这些结果归一化为 1.73m^2 的体表面积,这是公认的成人平均表面积。该方程已经在18和70岁之间的肾功能受损($\text{eGFR} < 60\text{mL/min/1.73m}^2$)的高加索人和非裔美国人群体中得到了广泛验证,并且对于所有常见肾脏病因的患者均显示出良好的性能。

[0232] 用于估算肌酐清除率(eC_{cr})的一种方法是使用Cockcroft-Gault方程,该方程进而估算以 mL/min 计的GFR:

$$\text{肌酐清除率 (mL/min)} = [(140 - \text{年龄}) \times \text{质量 (Kg)}] \div 72 \times \text{血清肌酐 (mg/dL)}$$

[*如果是女性乘以0.85]

[0233] Cockcroft-Gault方程是美国食品药品监督管理局建议用于肾损害研究的方程。通常将通过Cockcroft-Gault公式计算得出的肌酐清除率相对于 1.73m^2 的体表面积归一化。因此,这个方程可以表示为以 mL/min/1.73m^2 计的估算的eGFR。GFR的正常范围(根据体表面积进行调整)在40岁以下的男性中为 $100\text{--}130\text{mL/min/1.73m}^2$ 并且在40岁以下的女性中为 $90\text{--}120\text{mL/min/1.73m}^2$ 。

[0234] 慢性肾脏病的严重程度已经以六个阶段定义(还参见表2): (阶段0) 肾功能正常 - GFR高于 90mL/min/1.73m^2 并且无蛋白尿; (阶段1) - GFR高于 90mL/min/1.73m^2 且有肾脏损害的证据; (阶段2) (轻度) - GFR为 $60\text{至}89\text{mL/min/1.73m}^2$ 且有肾脏损害的证据; (阶段3) (中度) - GFR为 $30\text{至}59\text{mL/min/1.73m}^2$; (阶段4) (重度) - GFR为 $15\text{至}29\text{mL/min/1.73m}^2$; (阶段5) 肾衰竭 - GFR小于 15mL/min/1.73m^2 。下表2显示了各个肾脏病阶段与相应的GFR水平。

表2

慢性肾脏病阶段	GFR 水平 (mL/min/1.73 m^2)
阶段 1 (正常)	≥ 90
阶段 2 (轻度)	60 - 89
阶段 3 (中度)	30 - 59
阶段 4 (重度)	15 - 29
阶段 5 (肾衰竭)	< 15

[0235] 给药、配制品和施用

[0236] 本文所述的一种或多种给药方案特别适合于具有一定程度的肾损害的法布里患者。几项研究已经调查了在法布里患者中每隔一天(QOD)使用 150mg 米加司他盐酸盐的情况。一项研究是在67名ERT初治患者中进行的为期24个月的试验,包括6个月的双盲、安慰剂对照期。另一项研究是在57名已经历ERT的患者中进行的活性对照、为期18个月的试验,并且具有12个月的开放标签扩展期(OLE)。两项研究均包括估算的肾小球滤过率(eGFR) $\geq$

30mL/min/1.73m²的患者。因此,两项研究均包括肾功能正常的法布里患者以及具有轻度和中度肾损害的患者,但两项研究均不包括具有重度肾损害的患者。

[0237] 对法布里患者进行米加司他治疗的研究确定,如通过替代标记所示,每隔一天的150mg米加司他盐酸盐减慢疾病的进展。

[0238] 因此,在一个或多个实施例中,以每隔一天一次(也称为“QOD”)的频率向法布里患者施用米加司他或其盐。在不同实施例中,本文所述的剂量涉及米加司他盐酸盐或当量剂量的米加司他或其不是盐酸盐的盐。在一些实施例中,这些剂量涉及米加司他的游离碱。在替代性实施例中,这些剂量涉及米加司他的盐。在另外的实施例中,米加司他的该盐是米加司他盐酸盐。米加司他或米加司他的盐的施用在本文中被称为“米加司他疗法”。

[0239] 米加司他或其盐的有效量可以在约100mg FBE至约150mg FBE的范围内。示例性剂量包括约100mg FBE、约105mg FBE、约110mg FBE、约115mg FBE、约120mg FBE、约123mg FBE、约125mg FBE、约130mg FBE、约135mg FBE、约140mg FBE、约145mg FBE或约150mg FBE。

[0240] 再次,应当注意,150mg的米加司他盐酸盐相当于123mg的游离碱形式的米加司他。因此,在一个或多个实施例中,该剂量是以每隔一天一次的频率施用的150mg的米加司他盐酸盐或当量剂量的米加司他或其不是盐酸盐的盐。如上所述,这个剂量被称为123mg FBE的米加司他。在另外的实施例中,该剂量是以每隔一天一次的频率施用的150mg的米加司他盐酸盐。在其他实施例中,该剂量是以每隔一天一次的频率施用的123mg的米加司他游离碱。

[0241] 在不同实施例中,该有效量为约122mg、约128mg、约134mg、约140mg、约146mg、约150mg、约152mg、约159mg、约165mg、约171mg、约177mg或约183mg的米加司他盐酸盐。

[0242] 因此,在不同实施例中,米加司他疗法包括以每隔一天一次的频率施用123mg FBE,例如每隔一天施用150mg的米加司他盐酸盐。

[0243] 米加司他或其盐的施用可以持续某一段时间。在一个或多个实施例中,米加司他或其盐施用至少28天的持续时间,例如至少30、60或90天,或至少3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、16、20、24、30或36个月,或至少1、2、3、4或5年。在不同实施例中,米加司他疗法是至少6个月(例如至少6、7、8、9、10、11、12、16、20、24、30或36个月,或至少1、2、3、4或5年)的长期米加司他疗法。

[0244] 根据本发明的米加司他或其盐的施用可以是以适合于任何施用途径的配制品形式,但是优选地以口服剂型(例如片剂、胶囊剂或溶液剂)施用。作为一个实例,向患者口服施用胶囊剂,每个胶囊剂含有150mg米加司他盐酸盐或当量剂量的米加司他或其不是盐酸盐的盐。

[0245] 在一些实施例中,口服施用PC(例如,米加司他或其盐)。在一个或多个实施例中,通过注射施用PC(例如,米加司他或其盐)。PC可以伴有药学上可接受的载体,这可以取决于施用方法。

[0246] 在一个或多个实施例中,PC(例如,米加司他或其盐)作为单一疗法施用,并且可以呈适合于任何施用途径的形式,包括例如以片剂或胶囊剂或液体剂的形式口服,或以注射用无菌水溶液形式施用。在其他实施例中,PC以干燥的冻干粉末的形式提供,以在重建期间或之后立即添加到替代酶的配制品中,以防止在施用前在体外进行酶聚集。

[0247] 当PC(例如,米加司他或其盐)被配制用于口服施用时,片剂或胶囊剂可以通过常规手段用药学上可接受的赋形剂来制备,这些赋形剂是例如粘合剂(例如,预糊化玉米淀

粉、聚乙烯吡咯烷酮或羟丙基甲基纤维素)；填充剂(例如，乳糖、微晶纤维素或磷酸氢钙)；润滑剂(例如，硬脂酸镁、滑石或二氧化硅)；崩解剂(例如，马铃薯淀粉或羟基乙酸淀粉钠)；或湿润剂(例如，十二烷基硫酸钠)。片剂可以通过本领域公知的方法包衣。用于口服施用的液体制剂可以采取例如溶液、糖浆或悬浮液的形式，或者它们可以作为干燥的产品(在使用前用水或其他合适的媒介物构建)而存在。此类液体制剂可以通过常规手段用药学上可接受的添加剂来制备，这些添加剂是例如助悬剂(例如，山梨糖醇糖浆、纤维素衍生物或氢化的可食用脂肪)；乳化剂(例如，卵磷脂或阿拉伯胶)；非水性媒介物(例如，杏仁油、油状酯、乙醇或分馏的植物油)；以及防腐剂(例如，对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯或山梨酸)。适当时，制剂还可以含有缓冲盐、调味剂、着色剂和甜味剂。可以适当地配制用于口服施用的制剂以使活性伴侣化合物可控制地释放。

[0248] 适合于肠胃外/注射使用的PC(例如，米加司他或其盐)的药物配制品通常包括无菌水溶液(在水溶性的情况下)、或者分散体以及用于临时制备无菌可注射溶液或分散体的无菌粉末。在所有情况下，该形式必须是无菌的且必须具有达到容易注射的程度的流动性。它在生产和储存条件下必须是稳定的并且必须抗微生物(例如细菌和真菌)的污染作用而保存。载体可以是含有例如以下的溶剂或分散介质：水、乙醇、多元醇(例如，甘油、丙二醇和聚乙二醇等)、其合适的混合物以及植物油。可以例如通过使用包衣(例如卵磷脂)、在分散体的情况下通过维持所需颗粒大小以及通过使用表面活性剂来维持适当的流动性。防止微生物的作用可以通过不同的抗菌剂以及抗真菌剂(例如，对羟苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、苜醇、山梨酸等)来实现。在许多情况下，包括等渗剂(例如，糖类或氯化钠)将是合理的。可以通过在组合物中使用延迟吸收的试剂(例如，单硬脂酸铝和明胶)来实现可注射组合物的延长吸收。

[0249] 按照需要，可以通过将经纯化的酶(若有的话)和PC(例如，米加司他或其盐)以需要的量掺入具有以上列举的各种其他成分的适当溶剂中，随后进行过滤或最终灭菌来制备无菌可注射溶液。通常，通过将各种灭菌的活性成分掺入无菌媒介物中来制备分散体，该无菌媒介物含有基础分散介质以及来自以上列举的那些的所需其他成分。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下，优选的制备方法是真空干燥和冷冻干燥技术，这从其之前的无菌过滤溶液产生活性成分加上任何另外的所需成分的粉末。

[0250] 该配制品可以含有赋形剂。可以被包括在该配制品中的药学上可接受的赋形剂是：缓冲剂，例如柠檬酸盐缓冲剂、磷酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、碳酸氢盐缓冲剂、氨基酸、尿素、醇、抗坏血酸和磷脂；蛋白质，例如血清白蛋白、胶原和明胶；盐，例如EDTA或EGTA和氯化钠；脂质体；聚乙烯吡咯烷酮；糖，例如右旋糖酐、甘露糖醇、山梨糖醇和甘油；丙二醇和聚乙二醇(例如，PEG-4000、PEG-6000)；甘油；甘氨酸或其他氨基酸；以及脂质。与配制品一起使用的缓冲剂体系包括柠檬酸盐；乙酸盐；碳酸氢盐；以及磷酸盐缓冲剂。磷酸盐缓冲剂是一个优选的实施例。

[0251] 伴侣化合物的施用途径可以是口服的或肠胃外的，包括静脉内、皮下、动脉内、腹膜内、眼内、肌内、经颊、经直肠、经阴道、眼眶内、脑内、真皮内、颅内、脊柱内、心室内、鞘内、脑池内、囊内、肺内、鼻内、经粘膜、经皮或经由吸入。

[0252] 伴侣化合物的上述肠胃外配制品的施用可以通过周期性注射制剂的推注，或者可以从储库通过静脉内或腹膜内施用来施用，该储库可以是外部的(例如，静脉注射袋)或

内部的(例如,生物可蚀性植入物)。

[0253] 涉及药物配制品和施用的实施例可以与本发明的任何其他实施例组合,例如涉及治疗患有法布里病的患者的方法、治疗患有法布里病的ERT初治患者的方法、降低肾脏GL-3的方法、稳定肾功能的方法、降低LVM或LVMI的方法、减少血浆溶血Gb₃的方法和/或治疗胃肠道症状(例如腹泻)的方法、增强被诊断为患有或疑似患有法布里病的患者的 α -GalA的方法、 α -GalA的药学伴侣在制备用于治疗被诊断为患有法布里病的患者的药物中的用途或用于治疗被诊断为患有法布里病的患者的 α -GalA的药学伴侣的实施例以及涉及顺从性突变、PC及其合适的剂量的实施例。

[0254] 在一个或多个实施例中,PC(例如,米加司他或其盐)与ERT组合施用。通过输注的方式,通过外源地引入野生型或具有生物学功能的酶,ERT增加了蛋白质的量。已经针对许多遗传障碍开发了这种疗法,这些遗传障碍包括如上引用的LSD(例如法布里病)。输注后,预期外源酶通过非特异性或受体特异性机制被组织吸收。通常,吸收效率不高,并且外源蛋白质的循环时间短。另外,外源蛋白质是不稳定的,并且经受快速的细胞内降解,而且在随后治疗的情况下具有不利免疫反应的可能。在一个或多个实施例中,将伴侣与替代酶(例如,替代 α -Gal A)同时施用。在一些实施例中,将伴侣与替代酶(例如,替代 α -Gal A)共配制。

[0255] 在一个或多个实施例中,将患者从ERT转换至米加司他疗法。在一些实施例中,鉴定了接受ERT的患者,中断了患者的ERT,并且该患者开始接受米加司他疗法。可以根据本文所述的任何方法进行米加司他疗法。

[0256] 肾功能的稳定

[0257] 本文所述的给药方案可以稳定具有不同程度肾损害的法布里患者的肾功能。在一个或多个实施例中,以每隔一天一次的频率向具有肾损害的法布里患者施用约100mg至约150mg FBE的米加司他或其盐。在一个或多个实施例中,每隔一天向该患者施用123mg FBE的米加司他或其盐,例如123mg的米加司他或150mg的米加司他盐酸盐。在一个或多个实施例中,该患者具有轻度或中度肾损害。在特定实施例中,该患者具有轻度肾损害。在其他特定实施例中,该患者具有中度肾损害。该患者可以是ERT初治的或已经历ERT的。

[0258] 米加司他的施用可以持续某一段时间。在一个或多个实施例中,米加司他施用至少28天,例如至少30、60或90天,或至少3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、16、20或24个月,或至少1、2、3、4或5年。在不同实施例中,米加司他疗法是至少6个月(例如至少6、7、8、9、10、11、12、16、20或24个月,或至少1、2、3、4或5年)的长期米加司他疗法。

[0259] 与没有用米加司他疗法治疗的同一患者相比,米加司他疗法可以减少法布里患者肾功能的下降。在一个或多个实施例中,米加司他疗法为患者提供了eGFR_{CKD-EPI}年变化率,该年变化率大于(即更正于)-5.0mL/min/1.73m²/年,例如大于-4.5、-4.0、-3.5、-3.0、-2.5、-2.0、-1.5、-1.0、-0.9、-0.8、-0.7、-0.6、-0.5、-0.4、-0.3、-0.2、-0.1或甚至大于0mL/min/1.73m²/年。在一个或多个实施例中,米加司他疗法为患者提供了mGFR_{碘酞醇}年变化率,该年变化率大于-5.0mL/min/1.73m²/年,例如大于-4.5、-4.0、-3.5、-3.0、-2.5、-2.0、-1.5、-1.0、-0.9、-0.8、-0.7、-0.6、-0.5、-0.4、-0.3、-0.2、-0.1或甚至大于0mL/min/1.73m²/年。因此,米加司他疗法可以减少患者的肾功能下降或甚至改善其肾功能。这些年变化率可以在特定时间段内(例如在6个月、12个月、18个月、24个月、30个月、36个月、48个月或60个月

内)进行测量。

[0260] 米加司他疗法可以减少一组法布里患者(例如具有不同程度肾损害的法布里患者的亚群)的肾功能下降。在一个或多个实施例中,米加司他疗法为具有轻度、中度或重度肾损害的法布里患者提供了 $eGFR_{CKD-EPI}$ 平均年变化率,该平均年变化率大于 $-5.0\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2/\text{年}$,例如大于 -4.5 、 -4.0 、 -3.5 、 -3.0 、 -2.5 、 -2.0 、 -1.5 、 -1.0 、 -0.9 、 -0.8 、 -0.7 、 -0.6 、 -0.5 、 -0.4 、 -0.3 、 -0.2 、 -0.1 或甚至大于 $0\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2/\text{年}$ 。在一个或多个实施例中,米加司他疗法为具有轻度、中度或重度肾损害的法布里患者提供了 $mGFR_{\text{碘酞醇}}$ 平均年变化率,该平均年变化率大于 $-5.0\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2/\text{年}$,例如大于 -4.5 、 -4.0 、 -3.5 、 -3.0 、 -2.5 、 -2.0 、 -1.5 、 -1.0 、 -0.9 、 -0.8 、 -0.7 、 -0.6 、 -0.5 、 -0.4 、 -0.3 、 -0.2 、 -0.1 或甚至大于 $0\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2/\text{年}$ 。这些平均年变化率可以在特定时间段内(例如在6个月、12个月、18个月、24个月、30个月、36个月、48个月或60个月内)进行测量。

左心室质量

[0261] 本文所述的给药方案可以改善法布里患者的LVMI。无论表型如何,未经治疗的法布里患者的LVMI和心脏肥大的自然病史(Patel, O'Mahony等人2015)表现为LVMI以 $+4.07$ 和 $+8.0\text{g}/\text{m}^2/\text{年}$ 之间的速率逐渐增加(Kampmann, Linhart等人2008; Wyatt, Henley等人2012; Germain, Weidemann等人2013)。由于未经治疗的法布里患者通常随着时间的推移表现出LVMI的增加,所以LVMI的降低和维持不变都指示米加司他疗法的益处。

[0262] 与没有用米加司他疗法治疗的同一患者相比,米加司他疗法可以减少法布里患者LVMI的增加。在一个或多个实施例中,米加司他疗法为患者提供了LVMI的改变,该改变小于(即,更负于) $0\text{g}/\text{m}^2$,例如小于或等于约 -0.5 、 -1 、 -1.5 、 -2 、 -2.5 、 -3 、 -3.5 、 -4 、 -4.5 、 -5 、 -5.5 、 -6 、 -7 、 -8 、 -9 、 -10 、 -11 、 -12 、 -13 、 -14 、 -15 、 -16 、 -17 、 -18 、 -19 或 $-20\text{g}/\text{m}^2$ 。换一种方式表达,在一个或多个实施例中,米加司他疗法提供了大于 $0\text{g}/\text{m}^2$ 的LVMI降低,例如至少约 0.5 、 1 、 1.5 、 2 、 2.5 、 3 、 3.5 、 4 、 4.5 、 5 、 5.5 、 6 、 7 、 8 、 9 、 10 、 11 、 12 、 13 、 14 、 15 、 16 、 17 、 18 、 19 或 $20\text{g}/\text{m}^2$ 的降低。在一个或多个实施例中,该患者具有轻度或中度肾损害。在特定实施例中,该患者具有轻度肾损害。在其他特定实施例中,该患者具有中度肾损害。该患者可以是ERT初治的或已经历ERT的。

[0263] 在一个或多个实施例中,在施用米加司他或其盐18个月后,米加司他疗法为一组已经历ERT的患者提供了至少约 $1\text{g}/\text{m}^2$ 的LVMI的平均降低。在不同实施例中,在施用米加司他或其盐18个月后,一组已经历ERT的患者的平均降低为至少约 1 、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 或 $10\text{g}/\text{m}^2$ 。

[0264] 在一个或多个实施例中,在施用米加司他或其盐18个月后,米加司他疗法为具有中度肾损害的一组已经历ERT的患者提供了至少约 $1\text{g}/\text{m}^2$ 的LVMI的平均降低。在不同实施例中,在施用米加司他或其盐18个月后,一组已经历ERT的患者的平均降低为至少约 1 、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 或 $10\text{g}/\text{m}^2$ 。

[0265] 在一个或多个实施例中,在施用米加司他或其盐24个月后,米加司他疗法为一组ERT初治患者提供了至少约 $1\text{g}/\text{m}^2$ 的LVMI的平均降低。在不同实施例中,在施用米加司他或其盐24个月后,一组ERT初治患者的平均降低为至少约 1 、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 或 $10\text{g}/\text{m}^2$ 。

[0266] 在一个或多个实施例中,在施用米加司他或其盐24个月后,米加司他疗法为具有中度肾损害的一组ERT初治患者提供了至少约 $1\text{g}/\text{m}^2$ 的LVMI的平均降低。在不同实施例中,

在施用米加司他或其盐24个月后,一组ERT初治患者的平均降低为至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10g/m²。

[0267] 在整个说明书中对“一个实施例”、“某些实施例”、“不同实施例”、“一个或多个实施例”或“实施例”的引用意味着与该实施例相联系地描述的具体的特征、结构、材料或特性被包括在本发明的至少一个实施例中。因此,在整个说明书的多个位置中出现的短语如“在一个或多个实施例中”、“在某些实施例中”、“在不同实施例中”、“在一个实施例中”或“在实施例中”不一定是指本发明的同一实施例。此外,在一个或多个实施例中,具体的特征、结构、材料或特性能以任何合适的方式进行组合。

[0268] 尽管已经参照具体实施例描述了本文的发明,但是应当理解这些实施例仅仅说明本发明的原理和应用。对本领域技术人员而言应当清楚的是,在不脱离本发明的精神和范围的情况下,可以对本发明的方法和设备进行多种修改和变化。因此,意图是本发明包括在所附权利要求及其等效物的范围内的修改和变化。

[0269] 在整个申请中引用了专利、专利申请、出版物、产品描述和方案,出于所有目的将其披露内容通过引用以其整体并入本文。

实例

[0270] 实例1:米加司他在具有肾损害的非法布里患者体内的药代动力学

[0271] 为研究米加司他HCl在具有肾损害的非法布里受试者体内的药代动力学和安全性进行了一项临床试验。向具有轻度、中度和重度肾损害以及正常肾功能的受试者施用单次150mg米加司他HCl剂量。根据FDA肾损害研究指南,通过Cockcroft-Gault方程估算eGFR。

[0272] 将志愿者招募进使用Cockcroft-Gault肌酐清除率方程(CL_{CR})计算的肾功能分层的两个群组。基于筛选时估算的 CL_{CR} (如使用Cockcroft-Gault方程计算的)为受试者分组。对于每名受试者,使用WinNonlin®软件(远见公司(Pharsight Corporation),版本5.2)通过非房室分析确定以下血浆米加司他PK参数。

C_{max} 观察到的最大浓度

t_{max} 达到最大浓度的时间

AUC_{0-t} 从第0小时到最后可测量浓度的浓度-时间曲线下面积,使用用于增加浓度的线性梯形规则和用于降低浓度的对数规则计算

$AUC_{0-\infty}$ 外推至无穷大的浓度-时间曲线下面积,使用以下公式计算:

$$AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t} + C_t / \lambda_z$$

其中 C_t 是最后可测量的浓度,并且 λ_z 是表观终末消除率常数

λ_z 表观终末消除率常数,其中 λ_z 是终末阶段期间对数浓度对时间曲线的线性回归斜率的大小

$t_{1/2}$ 表观终末消除半衰期(只要有可能),其中

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

CL/F 口服清除率,计算为剂量/ $AUC_{0-\infty}$

V_d/F 口服分布容积,计算为剂量/ $AUC_{0-\infty} \cdot \lambda_z$

C_{48} 给药后48小时的浓度

[0273] 确定的药代动力学参数为:浓度-时间曲线下面积(AUC),从时间零到给药后最后可测量的浓度的浓度-时间曲线下面积(AUC_{0-t})和外推至无穷大的浓度-时间曲线下面积

($AUC_{0-\infty}$), 观察到的最大浓度 (C_{max}), 达到 C_{max} 的时间 (t_{max}), 给药后48小时的浓度 (C_{48}), 终末消除半衰期 ($t_{1/2}$), 口服清除率 (CL/F) 和表观终末消除率常数 (λ_z)。

[0274] 如果如使用Cockcroft-Gault公式确定的肌酐清除率 (CL_{CR}) 小于90mL/min (即 $CL_{CR} < 90\text{mL/min}$), 则研究受试者被定义为具有肾损害。根据肾功能障碍的程度对受试者进行分组: 轻度 ($CL_{CR} \geq 60$ 且 $< 90\text{mL/min}$), 中度 ($CL_{CR} \geq 30$ 且 $< 60\text{mL/min}$), 或者重度 ($CL_{CR} \geq 15$ 且 $< 30\text{mL/min}$)

[0275] 已经在健康志愿者和具有正常至轻度受损肾功能的法布里患者中研究了米加司他的血浆和尿液药代动力学。在单剂量研究中, 米加司他具有中等吸收率, 在所研究的剂量范围内口服施用后大约3小时 (范围, 1至6hr) 达到最大浓度。在口服剂量从75mg到1250mg米加司他后, 平均 C_{max} 和 AUC_{0-t} 值以与剂量成比例的方式增加。平均消除半衰期 ($t_{1/2}$) 范围从3.04至4.79小时。对于25mg、75mg、225mg和675mg剂量组, 在尿液中回收的剂量相对于单递增剂量 (SAD) 研究中评估的剂量的平均百分比分别为32.2%、43.0%、49.3%和48.5%。在多递增剂量研究中, 仅观察到血浆米加司他的最少积累。在TQT研究中, 米加司他在单剂量150mg和1250mg下对心脏复极化的作用均呈阴性 (Johnson等人, Clin Pharmacol Drug Dev. [药物开发中的临床药理学] 2013年4月; 2(2): 120-32)。

[0276] 在于非法布里受试者中进行的这项单剂量肾损害研究中, 与肾功能正常的受试者相比, 单剂量米加司他HCl 150mg的血浆浓度随肾衰竭程度的增加而增加。在单次口服剂量的米加司他HCl 150mg后, 与健康对照受试者相比, 具有轻度、中度或重度肾损害的受试者的平均血浆米加司他 $AUC_{0-\infty}$ 分别增加了1.2倍、1.8倍和4.5倍。在单剂量施用后, 与肾功能正常的受试者相比, 血浆米加司他 $AUC_{0-\infty}$ 值的增加在具有中度或重度肾损害的受试者中是统计上显著的, 但是在具有轻度肾损害的受试者中不是统计上显著的。在重度组中米加司他 t_{max} 稍微延时; 在单次口服剂量的米加司他HCl 150mg后, 与健康对照受试者相比, 具有不同程度肾损害的受试者的任何一组的 C_{max} 均未增加。与健康对照受试者相比, 具有中度 (主要来自 $Cr_{CL} < 50\text{mL/min}$ 的受试者) 和重度肾损害的受试者的血浆米加司他 C_{48} 水平升高。肾功能正常的受试者和具有轻度、中度或重度肾损害的受试者的血浆米加司他的 $t_{1/2}$ 分别随着肾损害程度的增加而增加 (算术均数 [min, max]: 6.4 [3.66, 9.47]、7.7 [3.81, 13.8]、22.2 [6.74, 48.3] 和 32.3 [24.6, 48.0] h)。平均 CL/F 随肾衰竭程度的增加而降低, 并且从轻度至重度肾损害的平均 CL/F 的范围从 12.1 至 2.7 L/hr (Johnson 等人, American College of Clinical Pharmacology [美国临床药理学院] 4.4 (2015): 256-261)。

[0277] 与肾功能正常的受试者相比, 米加司他的清除率随肾损害的增加而降低, 从而导致米加司他HCl 血浆 $t_{1/2}$ 、 $AUC_{0-\infty}$ 和 C_{48} 的增加。在所有肾功能组中, 不良事件的发生率相当。

[0278] 在单次口服剂量的150mg米加司他HCl后, 血浆暴露 (表示为 AUC_{0-t}) 随着肾损害程度的增加而增加。图1A显示了米加司他 AUC_{0-t} 值随着 CL_{CR} 值的减小而增加。图1B显示了每个肾功能组的平均 (SE) 血浆米加司他浓度-时间曲线。BLQ值输入为零, 并被包括在均数计算中。

[0279] 如图1C所示, 随着肾损害的恶化, 血浆米加司他 AUC_{0-t} 值以非线性方式增加。结果证明, 随着肾损害的恶化, 血浆米加司他的清除率降低, 从而导致 $t_{1/2}$ 延长, C_{48} 值升高和总题血浆暴露 ($AUC_{0-\infty}$) 升高, 特别是在具有重度肾损害的受试者中。米加司他主要在尿液中不变地排泄。因此, 血浆米加司他暴露的增加与肾损害的恶化一致。

[0280] 结论:血浆米加司他清除率随着肾损害程度的增加而降低。

[0281] PK结果的总结显示在下表3中。

表3

PK		肾功能组			
		正常 (N = 8)	轻度 (N = 8)	中度 (N = 8)	重度 (N = 8)
AUC _{0-t}	(ng·hr/mL)	12306 (27.9)	14389 (31.1)	22126 (42.8)	53070 (27.0)
AUC _{0-∞}	(ng·hr/mL)	12397 (27.7)	14536 (30.7)	22460 (42.2)	56154 (24.9)
C _{max}	(ng/mL)	2100 (26.0)	2191 (28.8)	1868 (32.1)	2078 (45.5)
t _{max}	(hr)	2.50(1.50, 3.00)	2.50 (1.50, 4.00)	3.00 (1.50, 4.00)	4.27 (3.00, 8.00)
t _{1/2}	(hr)	6.42 (1.93)	7.66 (3.02)	22.2 (14.2)	32.3 (7.35)
CL/F	(L/hr)	12.1 (27.7)	10.3 (30.7)	6.68 (42.2)	2.67 (24.9)
C ₄₈	(ng/mL)	5.70 (3.63)	9.34 (7.57)	64.5 (68.1)	334 (126)

[0282] 实例2:对肾损害受试者的多剂量模拟

[0283] 在实例1的肾损害研究中,相对于肾功能正常的受试者,在eGFR值 $\leq 35\text{mL/min}$ 下,观察到曲线下面积(AUC)和米加司他在QOD给药后48小时的谷浓度(C₄₈)的2至4倍的一致增加。

[0284] 开发群体PK模型以预测具有不同程度肾损害的法布里患者的暴露和IC₅₀以上的时间。这个实例提供了对实例1的肾损害受试者给药的计算机模拟。关键假设是在具有肾损害的非法布里肾损害受试者中表征的暴露与具有肾损害的法布里患者中相同。软件程序是WinNonlin 5.2或更高版本。模型的条件如下所述。BSA调整后的eGFR_{Cockcroft-Gault} $\leq 35\text{mL/min}/1.73\text{m}^2$ 的11名受试者被包括在建模练习中;3名具有中度肾损害,但是 $\geq 30\text{mL/min}/1.73\text{m}^2$ 且 $\leq 35\text{mL/min}/1.73\text{m}^2$;并且8名 $\geq 14\text{mL/min}/1.73\text{m}^2$ 且 $< 30\text{mL/min}/1.73\text{m}^2$ 。第七个剂量假定为稳态。

[0285] 2房室模型用于从单剂量数据估算Vd和消除率常数。将这些估算值输入到每个分子剂量模拟方案中。

[0286] 图2显示了150mg米加司他HCl QOD给药方案的平均模拟图。下表4显示了暴露和积累率。

[0287] 图3显示了来自实例1的AUC与C₄₈的关系。这个短棒图提供了在所有肾功能水平上AUC与C₄₈浓度的视觉相关性,并且证明这两个值在视觉上具有良好的相关性。

表4

受试者	肾功能组	BSA 调整后的 eGFR-Cockcroft-Gault (mL/min/1.73 m ²)	AUC _{0-48h}	R _{ac48h}
1	中度 (≥ 30 - ≤ 35)	35.3	31920	1.12
2	中度 (≥ 30 - ≤ 35)	35.0	35320	1.17
3	中度 (≥ 30 - ≤ 35)	32.2	17507	1.12
4	重度 (< 30)	18.4	59178	1.42
5	重度 (< 30)	17.0	44124	1.21
6	重度 (< 30)	20.6	37409	1.28
7	重度 (< 30)	15.8	41687	1.54
8	重度 (< 30)	21.9	45790	1.29
9	重度 (< 30)	29.3	56331	1.17
10	重度 (< 30)	14.4	23732	1.45
11	重度 (< 30)	24.4	39012	1.26
几何均数		22.9	37256	1.27
CV%		33.8	33.4	11.1

实例3:米加司他在具有肾损害的法布里患者体内的药代动力学

[0288] 上面的计算机建模提供了血浆米加司他暴露的方案,但不能解释法布里患者的肾损害。也就是说,该数据不包括药效学组分(血浆溶血GB₃)。因此,对具有肾损害的两名法布里患者进行了评估。一名患者(P1)具有中度肾损害,而另一名患者(P2)具有重度肾损害。下表5显示了与来自实例1的肾损害研究的ERT初治法布里患者和中度受损的受试者的研究相比,P1的血浆米加司他浓度。相距6个月进行了两组米加司他浓度测量,并且该患者先前曾用米加司他进行过治疗。表6显示了除了与来自实例1的肾损害研究的严重受损的患者相比,P2的类似信息。ERT初治研究是在具有顺从性突变的法布里患者中进行的,在其中通过稀疏血液采样进行了群体PK。与ERT初治研究的结果进行比较允许比较大部分正常,但是具有一些轻度和少数中度受损的法布里患者的法布里群体中的PK。ERT初治研究中没有患者具有重度肾损害,因为这些患者被排除在研究之外。

表5

标称 小时	时间 (hr)	米加司他 浓度 (ng/mL)	6 个月后的米 加司他浓度 (ng/mL)	与 ERT 初治研 究 PK 的比较	与实例 1 中度损 害的比较
0	给药前	19.9	36.4	8.70	64.5 (105.6%)
3	3 小时后	1620	2160	1180 (31.0%)	1868 (29.7%)
24	24 小时后	168	211	-	239 (85.1%)
48	48 小时后	41.8	62.4	8.70	64.5 (105.6%)

表6

标称 小时	文本 时间	场合	米加司他浓度 (ng/mL)	与 ERT 初治研 究 PPK 的比较	与实例 1 重度损 害的比较
2	2h	1	564	-	1549 (59.3%)
48	48h	1	322	8.70	334 (38.2%)
24	24h	2	569	-	770 (26.5%)
48	48h	2	260	8.70	334 (38.2%)

[0289] 如从表5中所见, C_{48} 浓度虽然增加了49%, 但仍然与具有中度肾损害的实例1非法布里受试者相似。 $C_{\max}$ 增加了33%, 但仍然与实例1相似。对于中度肾损害, C_{24} 与实例1相似。对于中度损害, $eGFR_{MDRD}$ 也仍然在范围内 (32mL/min)。

[0290] 括号中的百分数是相对较高的变异系数, 其对应于时间0h或时间48h浓度的变化。这个结果可能是由于来自实例1的具有中度肾损害的受试者中有一半具有低浓度并且另一半具有高浓度的事实。

[0291] 对于P1 (第三和第四列), 在48小时的浓度高于在0小时的浓度, 但是对于来自实例1的具有中度损害的人, 在48小时的浓度与在0小时的浓度相同。这是因为在P1中分别在时间0和48时采集了血样。然而, 在实例1中使用了来自单剂量数据的重复剂量建模模拟输出, 因此这些值是相同的。

[0292] 从表6中可以看到相似的趋势。因此, 表5和表6证实了米加司他在具有相似肾损害的法布里和非法布里患者体内具有相似的药代动力学。

[0293] 图4显示了法布里患者的血浆米加司他谷浓度 (C_{48}) 与实例1的肾损害研究的关系。图5显示了平均 (SD) 肾损害研究暴露与法布里患者估算的AUC的关系。如从图中所见, P1和P2遵循非法布里患者中的肾损害研究结果的总体趋势。

[0294] 下表7显示了P1的溶血GB₃/eGFR。

表7

访视	溶血Gb ₃ (nM/L)	eGFR (MDRD), IDMS可追踪
18 个月访视	11.1	42
24 个月访视	13.1	37
30 个月访视	10.8	不可用
34 个月访视	9.3	32

[0295] 尽管肾功能持续下降至eGFR为32mL/min/1.73m²,但是血浆溶血GB₃相对于以前的访视仍未显示出临床相关变化,并且血浆米加司他浓度仍然与在具有中度肾损害的非布法布里患者中观察到的浓度相似。

[0296] 这项研究证明,法布里患者的肾损害和药代动力学趋势与非布法布里患者的趋势相关。

[0297] 实例4:对肾损害受试者的另外模拟

[0298] 这个实例提供了对实例1的肾损害受试者的米加司他给药的另外计算机模拟。

[0299] 图6A-6D分别显示了正常、重度、轻度和中度肾损害受试者的模拟中值和观察到的米加司他浓度与时间的关系。下表8显示了数据:

表8

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

^a几何均数 (CV%)

^c均数 (SD)

[0300] 图7A-7D分别显示了正常、轻度、中度和重度肾损害受试者的模拟C_{max}、AUC、C_{min}和C₄₈。

[0301] 图8A-8D显示了QOD的稳态预测。虚线是QT研究的平均值。图9A-9D分别显示了同一模拟的C_{max}、AUC、C_{min}和C₄₈。

[0302] 实例5:米格司他疗法在具有肾损害和/或蛋白尿升高的法布里患者中的临床结果

[0303] 如上所述,在法布里患者中每隔一天 (QOD) 使用150mg米加司他盐酸盐进行了几项

研究。一项研究是在67名ERT初治患者中进行的为期24个月的试验,包括6个月的双盲、安慰剂对照期。另一项研究是在57名已经历ERT的患者中进行的活性对照、为期18个月的试验,并且具有12个月的开放标签扩展期(OLE)。ERT初治和已经历ERT的研究均包括 $eGFR \geq 30 \text{ mL/min/1.73m}^2$ 的法布里患者。这些研究的研究设计显示在图10A-10B中。

[0304] 在已经历ERT的研究中,主要功效参数是使用碘海醇清除率测量的GFR ($mGFR_{\text{碘海醇}}$)从基线到第18个月的年变化率($\text{mL/min/1.73m}^2/\text{年}$)以及使用慢性肾脏病流行病学合作研究(CKD-EPI)公式测量的eGFR ($eGFR_{\text{CKD-EPI}}$)。还计算了使用肾脏疾病饮食调整测量的eGFR ($eGFR_{\text{MDRD}}$)的年变化率。

[0305] 在ERT初治研究中,主要功效参数是每个肾间质毛细血管的GL-3包含物。也通过 $mGFR_{\text{碘海醇}}$ 、 $eGFR_{\text{CKD-EPI}}$ 和 $eGFR_{\text{MDRD}}$ 评估了肾功能。

[0306] ERT初治研究的数据的事后分析检查了具有中度肾损害 ($30 \text{ 至} < 60 \text{ mL/min/1.73m}^2$)、轻度肾损害 ($60 \text{ 至} < 90 \text{ mL/min/1.73m}^2$) 和正常肾功能 ($\geq 90 \text{ mL/min/1.73m}^2$) 的顺从性患者的亚组中基于基线时的eGFR的 $eGFR_{\text{CKD-EPI}}$ 年变化率。从基线到18/24个月的 $eGFR_{\text{CKD-EPI}}$ 年变化率显示在图11中。如从图11中可以看出,具有中度肾损害的患者 $eGFR_{\text{CKD-EPI}}$ 的平均 $\pm \text{SEM}$ 年变化率为 $-0.7 \pm 3.97 \text{ mL/min/1.73m}^2/\text{年}$,具有轻度肾损害的患者 $eGFR_{\text{CKD-EPI}}$ 平均变化率为 $-0.8 \pm 1.01 \text{ mL/min/1.73m}^2/\text{年}$,并且肾功能正常的患者 $eGFR_{\text{CKD-EPI}}$ 平均年变化率为 $0.2 \pm 0.90 \text{ mL/min/1.73m}^2/\text{年}$ 。此数据显示了无论基线eGFR如何,都能观察到米加司他治疗对肾功能的稳定。

[0307] 已经历ERT的研究的数据的事后分析检查了具有轻度/中度肾损害 ($30 \text{ 至} < 90 \text{ mL/min/1.73m}^2$) 和正常肾功能 ($\geq 90 \text{ mL/min/1.73m}^2$) 的患者的亚组中基于基线时的eGFR的 $eGFR_{\text{CKD-EPI}}$ 和 $mGFR_{\text{碘海醇}}$ 年变化率。接受米加司他疗法(患者具有顺从性突变)和ERT的患者从基线到18个月的 $eGFR_{\text{CKD-EPI}}$ 和 $mGFR_{\text{碘海醇}}$ 的年变化率分别显示在图12A-12B中。如从图12A中可以看出,肾功能正常的患者在接受米加司他疗法时的 $eGFR_{\text{CKD-EPI}}$ 平均年变化率为 $-0.4 \text{ mL/min/1.73m}^2/\text{年}$,并且在接受ERT时为 $-1.03 \text{ mL/min/1.73m}^2/\text{年}$ 。具有轻度或中度肾损害的患者在接受米加司他疗法时的 $eGFR_{\text{CKD-EPI}}$ 平均年变化率为 $-3.33 \text{ mL/min/1.73m}^2/\text{年}$,并且在接受ERT时为 $-9.05 \text{ mL/min/1.73m}^2/\text{年}$ 。如从图12B中可以看出,肾功能正常的患者在接受米加司他疗法时的 $mGFR_{\text{碘海醇}}$ 平均年变化率为 $-4.35 \text{ mL/min/1.73m}^2/\text{年}$,并且在接受ERT时为 $-3.24 \text{ mL/min/1.73m}^2/\text{年}$ 。具有轻度或中度肾损害的患者在接受米加司他疗法时的 $mGFR_{\text{碘海醇}}$ 平均年变化率为 $-3.51 \text{ mL/min/1.73m}^2/\text{年}$,并且在接受ERT时为 $-7.96 \text{ mL/min/1.73m}^2/\text{年}$ 。此数据显示,使用两种GFR方法,米加司他疗法和ERT对肾功能具有相当的有利作用。

[0308] 已经历ERT的研究的数据的另一项事后分析检查了具有中度肾损害 ($30 \text{ 至} < 60 \text{ mL/min/1.73m}^2$)、轻度肾损害 ($60 \text{ 至} < 90 \text{ mL/min/1.73m}^2$) 和正常肾功能 ($\geq 90 \text{ mL/min/1.73m}^2$) 的患者的亚组中基于基线时的eGFR的 $eGFR_{\text{CKD-EPI}}$ 年变化率。接受米加司他疗法(患者具有顺从性突变)和ERT的患者从基线到18个月的年变化率显示在图13中。如从图13中可以看出,肾功能正常的患者在接受米加司他疗法时的 $eGFR_{\text{CKD-EPI}}$ 的平均 $\pm \text{SE}$ 年变化率为 $-2.0 \pm 0.57 \text{ mL/min/1.73m}^2/\text{年}$,并且在接受ERT时为 $-2.1 \pm 1.60 \text{ mL/min/1.73m}^2/\text{年}$ 。具有轻度肾损害的患者在接受米加司他疗法时的 $eGFR_{\text{CKD-EPI}}$ 的平均 $\pm \text{SE}$ 年变化率为 $-0.2 \pm 1.25 \text{ mL/min/1.73m}^2/\text{年}$,并且在接受ERT时为 $-7.3 \pm 6.01 \text{ mL/min/1.73m}^2/\text{年}$ 。具有中度肾损害的患者在接受米加司他疗法时的 $eGFR_{\text{CKD-EPI}}$ 的平均 $\pm \text{SE}$ 年变化率为 $-4.5 \pm 2.68 \text{ mL/min/1.73m}^2/\text{年}$,并且

在接受ERT时为 $1.3\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2/\text{年}$ 。此数据显示,无论患者的肾功能正常还是具有轻度肾损害,米加司他都稳定肾功能。尽管此分析中包括的具有中度肾损害的患者数目为二(与ERT初治研究的三相比),但是当向具有某种形式的肾损害的患者施用米加司他时,该数据支持米加司他的功效。

[0309] 这些研究的数据的进一步分析检查了基于基线时的肾功能的 $\text{eGFR}_{\text{CKD-EPI}}$ 、 LVMi 、 $\text{WBC}\alpha\text{-Gal A}$ 活性和血浆溶血 Gb_3 水平的年变化率。每个肾亚组的结果显示在下表9中,其中ERT初治研究亚组是基于 $\text{eGFR}_{\text{MDRD}}$ 并且已经历ERT的研究亚组是基于 $\text{mGFR}_{\text{碘酞醇}}$ 。

表9

治疗	肾亚组	相对于基线的变化， 均数 ± SE [n]			
		eGFR _{CKD-EPI} 年变 化率 mL/min/1.73 m ²	LVMi, g/m ²	WBC α-Gal A 活性， 4 MU/hr/mg (只限男性)	血浆溶血 Gb ₃ , nmol/L (SD 代替 SE)
ERT 初治					
米加司他→ 米加司他 0-24 月	30 至< 60	+3.2 ± 1.1 [2]	-5.5 ± 10.0 [2]	+1.4 [1]	-29.0 (41.5) [2]
	≥ 60	-0.7 ± 0.6 [20]	-9.2 ± 5.8 [14]	+1.6 ± 1.5 [3]	-7.7 (24.5) [14]
安慰剂→ 米加司他 6-24 月	30 至< 60	-2.8 ± 2.8 [2]	-21.0 ± 14.1 [2]	+4.0 ± 3.0 [2]	—
	≥ 60	+0.1 ± 0.7 [17]	-3.2 ± 5.6 [10]	+5.2 1.4 [5]	-20.0 (28.7) [13]
已经历 ERT					
米加司他 0-18 月	30 至< 60	-4.2 ± 2.7 [2]	-10.2 ± 2.4 [2]	+4.6 ± 2.3 [2]	+0.5 (0.6) [3]
	≥ 60	-0.4 ± 0.8 [32]	-4.8 ± 2.3 [24]	+5.5 ± 1.4 [12]	1.9 (5.8) [28]

[0310] 从表9中可以看出,在ERT初治研究中,在两个肾亚组中,用米加司他在第24个月时使血浆溶血 Gb_3 和 LVMi 下降,并且使 $\text{WBC}\alpha\text{-Gal A}$ 活性增加。此外,无论肾功能如何,在ERT初治研究中,用米加司他($\text{eGFR} < 60\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$, -0.39 , $n=3$; $\text{eGFR} \geq 60\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$, -0.30 , $n=22$)而非安慰剂(<60 , 0.04 , $n=2$; ≥ 60 , 0.07 , $n=18$)使肾间质毛细血管GL-3包含物从基线到第6个月减少。表9还显示,在已经历ERT的研究中,在两个肾亚组中,用米加司他治疗18个月期间, LVMi 降低, $\text{WBC}\alpha\text{-Gal A}$ 活性增加,并且溶血 Gb_3 保持较低且稳定。表9还显示,在ERT初治和已经历ERT的两项研究中,基线 $\text{eGFR} \geq 60\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ 的患者的肾功能被稳定。当向具有某种形式的肾损害的患者施用米加司他时,此数据进一步支持了米加司他的功效。

[0311] 除上述研究之外,其他患者在其他研究(例如剂量发现研究和/或长期扩展研究)中也接受了米加司他疗法。完成一些研究的患者有资格在单独的扩展研究中每隔一天继续使用开放标签米加司他HCl 150mg。

[0312] 对完成多项研究的12名患者进行进一步分析。将线性回归用于计算 $eGFR_{CKD-EPI}$ 相对于基线的年变化率。在进行此分析时,这12名患者接受米加司他的平均时间为8.2(标准差[SD],0.83)年,接受治疗的中值时间为8.4(范围,6.3-9.3)年,并且11名患者接受米加司他HCl 150mg QOD $\geq$ 17个月。这12名患者的基线人口统计数据显示在下表10中:

表10

患者	年龄 (岁)	性别	eGFR (mL/min/1.73 m ²)
1	37	M	100.9
2	39	M	114.4
3	42	M	87.1
4	49	M	84.4
5	24	M	126.2
6	39	M	121.7
7	55	M	92.0
8	47	M	135.7
9	62	F	90.1
10	59	F	76.4
11	36	F	100.6
12	43	F	116.0
均数 (SD)	44.3 (10.7)	--	103.8 (18.7)
中值 (min, max)	42.5 (24, 62)	--	100.8 (76, 136)

[0313] 这些患者的 $eGFR_{CKD-EPI}$ 年变化率显示在下表11中:

表11

患者	eGFR _{CKD-EPI} 年变化率, mL/min/1.72 m ^{2a}
1	-0.853
2	0.584
3	-2.838
4	0.488
5	0.001
6	-2.179
7	-0.704
8	-1.09
9	-0.443
10	0.219
11	-0.342
12	-0.871
均数 (95% CI)	-0.67 (-1.32, -0.02)

^a包括米加司他治疗的整个持续时间,包括当患者接受米加司他的各种给药方案时的时间段以及当患者每隔一天接受米加司他HCl 150mg时的时间段

[0314] 从表11中可以看出,在这12名患者中,在整个米加司他治疗期期间(平均暴露,8.2年),肾功能保持稳定(eGFR_{CKD-EPI}年平均变化率,-0.67mL/min/1.72m²[95% CI-1.32,-0.02])。在接受米加司他HCl 150mg QOD≥17个月的11名患者(平均暴露,4-5年)的分析中,肾功能也保持稳定(eGFR_{CKD-EPI}年平均变化率,0.24mL/min/1.72m²[95% CI-1.7,2.2])。这11名患者的基于性别和基线蛋白尿水平的肾结果显示在下表12中:

表12

性别	基线 24 小时尿蛋白 (mg/24 h) 类别 ^a	n	eGFR _{CKD-EPI} 年变化率, mL/min/1.73 m ² , 均数 (95% CI)
全部	全部	11	+0.3 [-1.7, 2.2]
男性	< 100	3	+0.4 [-4.1, 4.9]
男性	100-1000	4	+2.4 [-4.0, 8.8]
女性	< 100	2	-1.6 [-2.4, -0.9]
女性	100-1000	2	-1.7 [-2.0, -1.3]

[0315] 这些结果显示,在用米加司他治疗长达9年的具有法布里病和顺从性突变的男性和女性患者中证明了肾功能的稳定。在较宽的基线蛋白尿范围内观察到了这些作用。

[0316] 对参与多项使用米加司他的研究的患者进行了另一项分析。基于基线时的蛋白尿(<100、100-1000、>1000mg/24h) 计算患者的eGFR_{CKD-EPI}和eGFR_{MDRD}的年变化率。对总共52名接受米加司他HCl 150mg QOD≥17个月的具有顺从性突变的ERT初治患者进行了分析。下表13显示了这些患者的基线蛋白尿和米加司他治疗的持续时间。

表13

	男性		女性	
基线 24 h 尿蛋白, mg/24 h	n	持续时间, 年, 中值 (min, max)	n	持续时间, 年, 中值 (min, max)
< 100	3	4.8 (4.8, 4.8)	9	4.2 (2.0, 5.3)
100-1000	16	4.3 (1.5, 4.9)	19	3.5 (1.5, 5.0)
> 1000	2	3.6 (3.0, 4.3)	3	3.7 (1.5, 4.1)

[0317] 从表13中可以看出,大多数患者(67%)在基线时的蛋白尿水平在100-1000mg/24h之间;23%的患者的基线蛋白尿水平<100mg/24h,并且10%的水平>1000mg/24h。基线蛋白尿亚组的中值治疗持续时间范围从3.5至4.8年(最大值,5.3年)。

[0318] 这些患者的依据基线蛋白尿的通过米加司他治疗的eGFR_{CKD-EPI}年变化率显示在下表14中。

表14

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

[0319] 从表14中可以看出,在米加司他治疗期间,大多数基线蛋白尿≤1000mg/24h的患者的eGFR_{CKD-EPI}保持稳定。在于基线时蛋白尿水平>1000mg/24h的患者中观察到eGFR_{CKD-EPI}下降。

[0320] 将eGFR_{MDRD}的结果与文献中报道的患有法布里病的未经治疗的患者的eGFR_{MDRD}变化进行比较(自然病史群组;Schiffmann R等人Nephrol Dial Transplant.[肾脏病与透析肾移植]2009;24:2102-11),并且显示在下表15中:

表15

	男性		女性	
基线 24h 尿蛋白, mg/24 h	n	eGFR 年变化率, mL/min/m ² , 均数 (SEM)	n	eGFR 年变化率, mL/min/m ² , 均数 (SEM)
米加司他群组				
< 100	3	1.2 (1.2)	9	-0.9 (0.5)
100-1000	16	0.9 (1.0)	19	1.3 (1.5)
> 1000	2	-4.3 (0.1)	3	-1.7 (1.1)
自然病史群组 (Schiffmann 等人 2009)				
< 100	18	-1.6 (1.5)	7	-0.6 (2.6)
100-1000	21	-3.3 (1.8)	17	-2.2 (2.2)
> 1000	22	-6.9 (1.5)	5	-4.6 (2.3)

[0321] 如表15所示,跨蛋白尿症类别,用米加司他治疗的患者的eGFR平均年变化率总体上小于自然病史群组中观察到的变化率。尽管所有未经治疗的亚组的平均eGFR均下降,但是基线蛋白尿<100mg/24h(男性)和100-1000mg/24h(男性和女性)的患者用米加司他看到升高。无论治疗如何,基线蛋白尿>1000mg/24h的患者的eGFR都下降;然而,与自然病史群组相比,用米加司他治疗的患者降低较少。因此,无论基线蛋白尿水平如何,长期米加司他治疗通常与患有法布里病且具有顺从性突变的患者的肾功能稳定相关。

[0322] 本文提及的专利和科学文献建立了本领域技术人员可用的知识。本文引用的所有美国专利和公开或未公开的美国专利申请均通过引用而并入。本文引用的所有公开的外国专利和专利申请均通过引用特此并入。本文引用的所有其他公开的参考文献、文件、手稿和科学文献均通过引用特此并入。

[0323] 尽管已经参照本发明的优选实施例具体显示和描述了本发明,但是本领域技术人员应当理解,在不脱离所附权利要求所涵盖的本发明的范围的情况下,可以在形式和细节上进行各种改变。

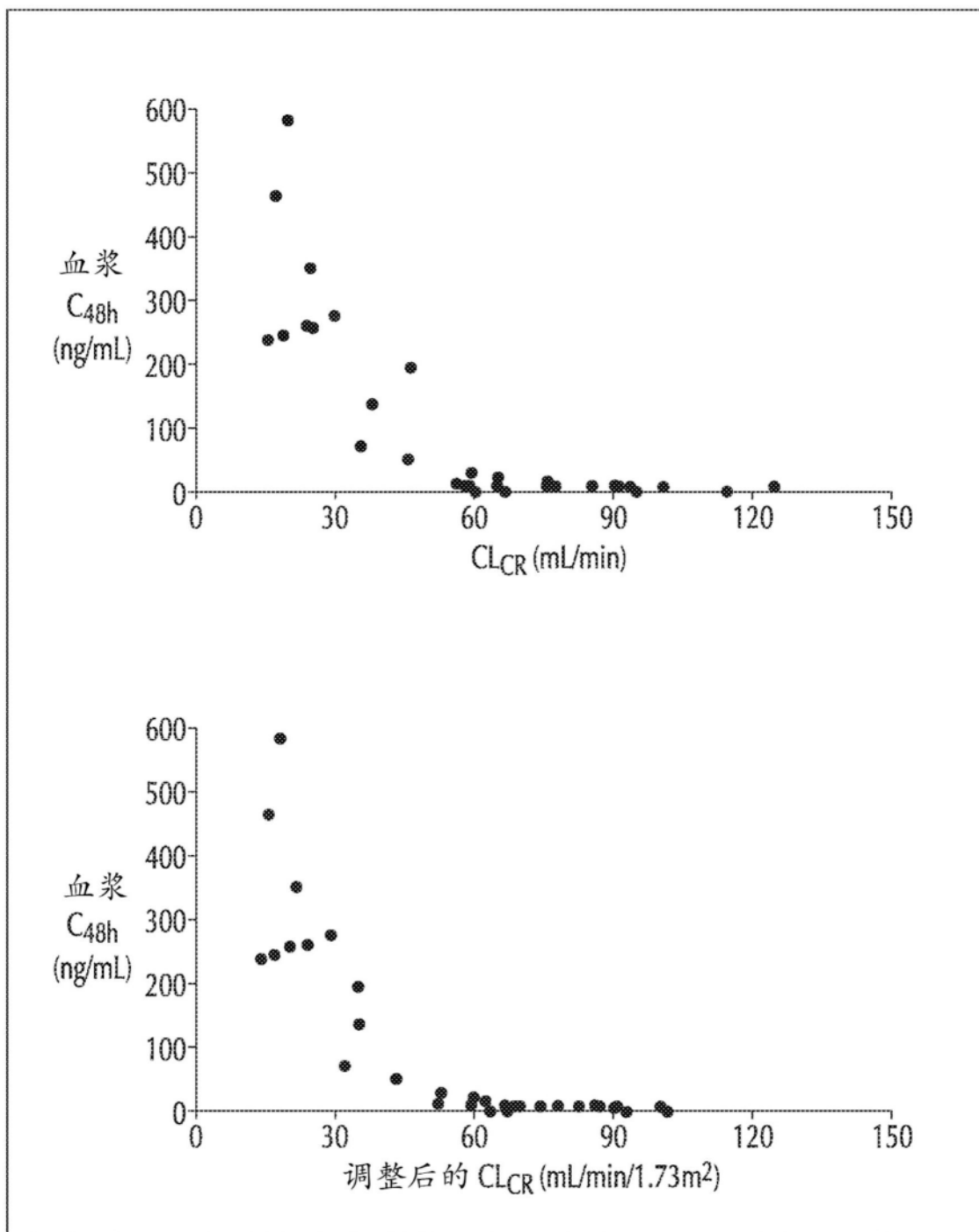


图1A

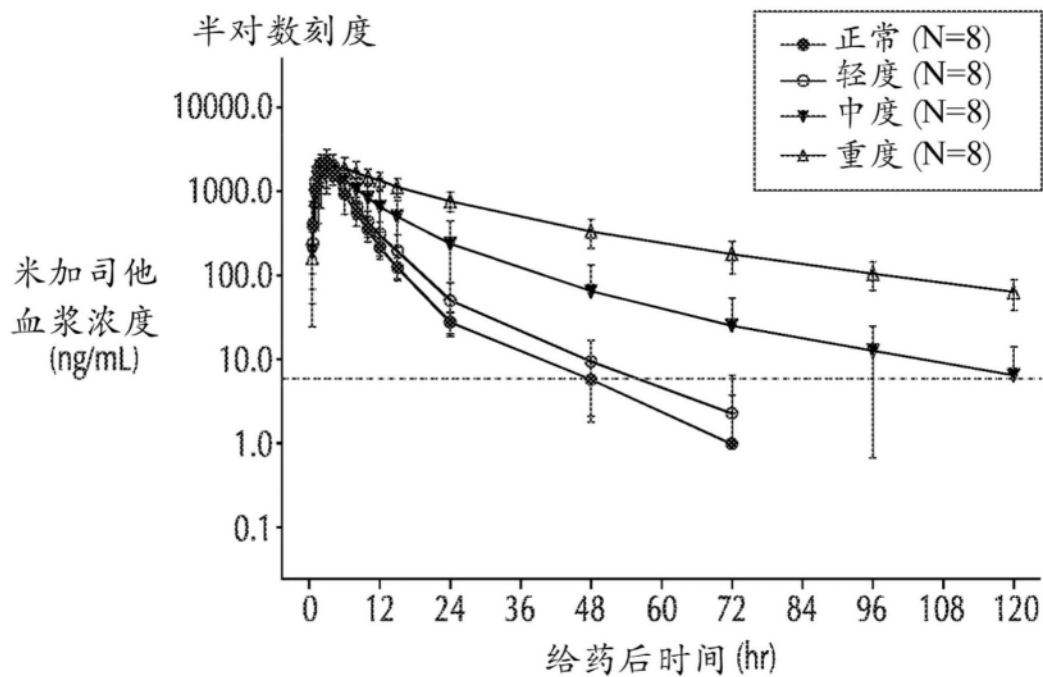


图1B

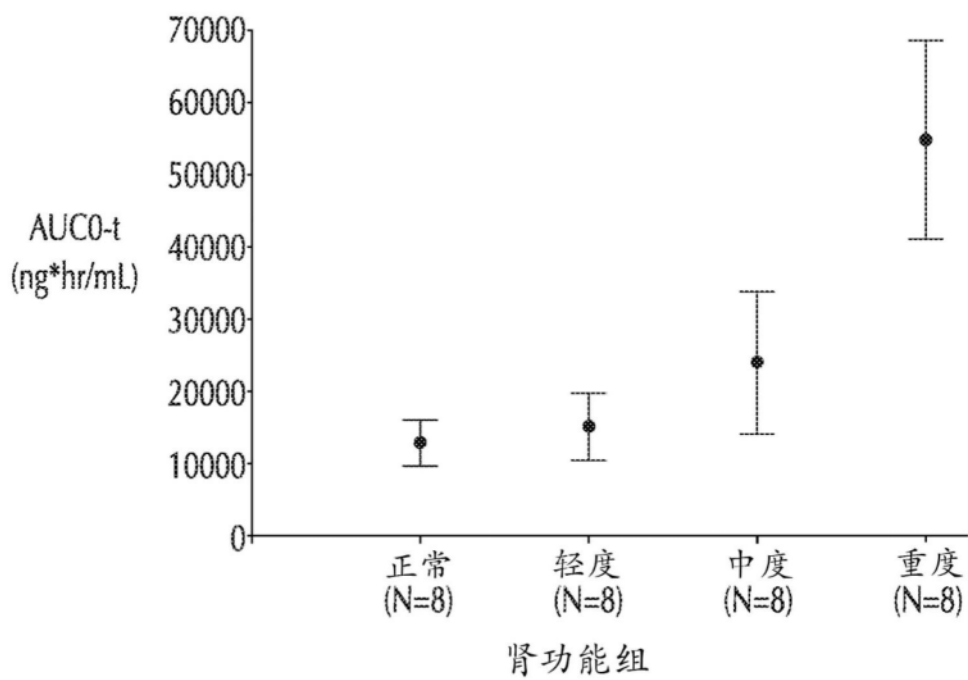


图1C

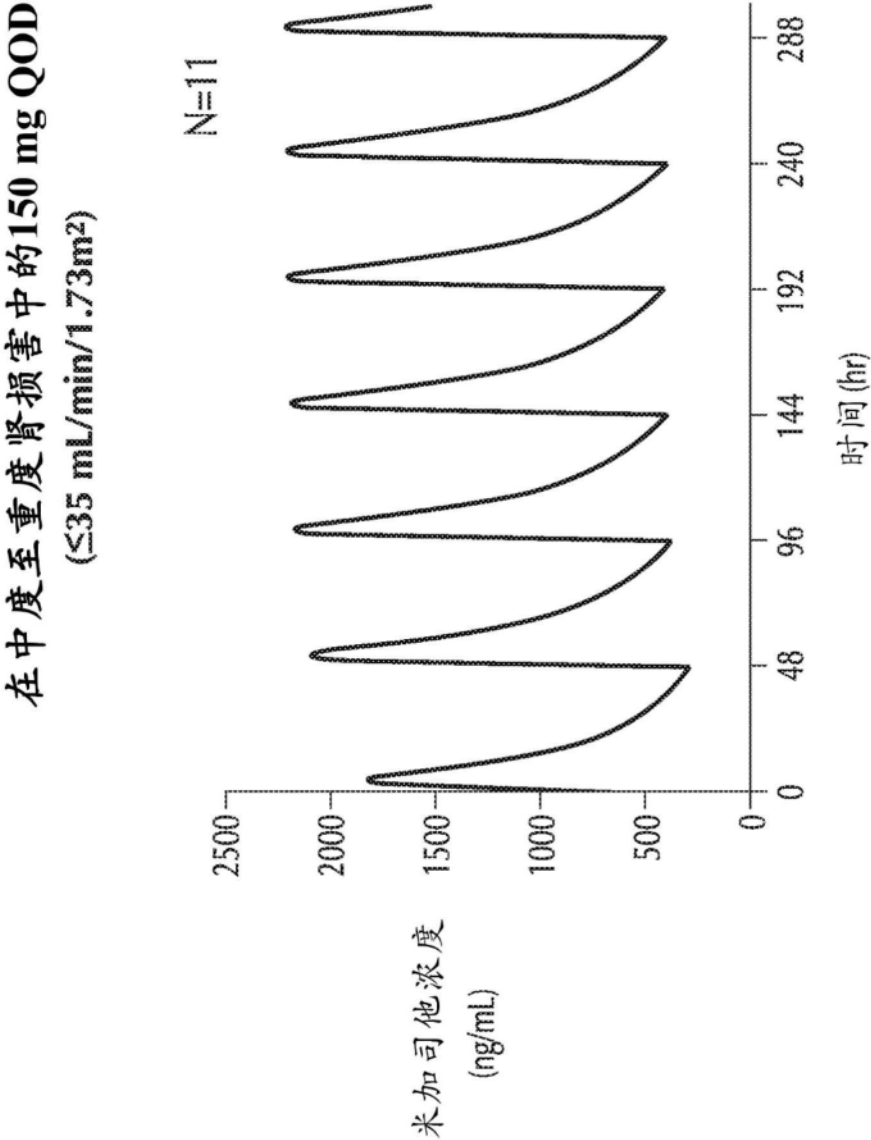


图2

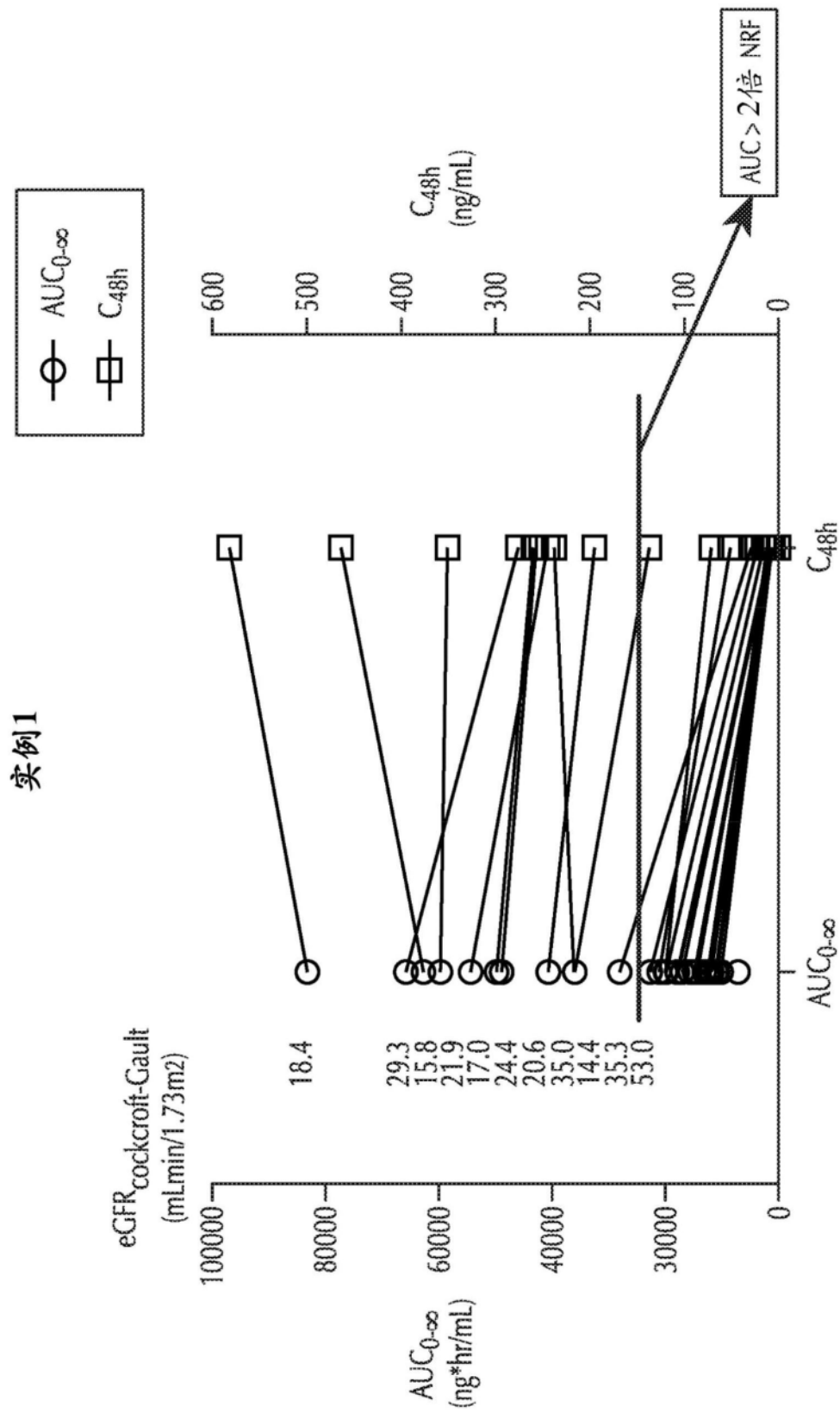


图3

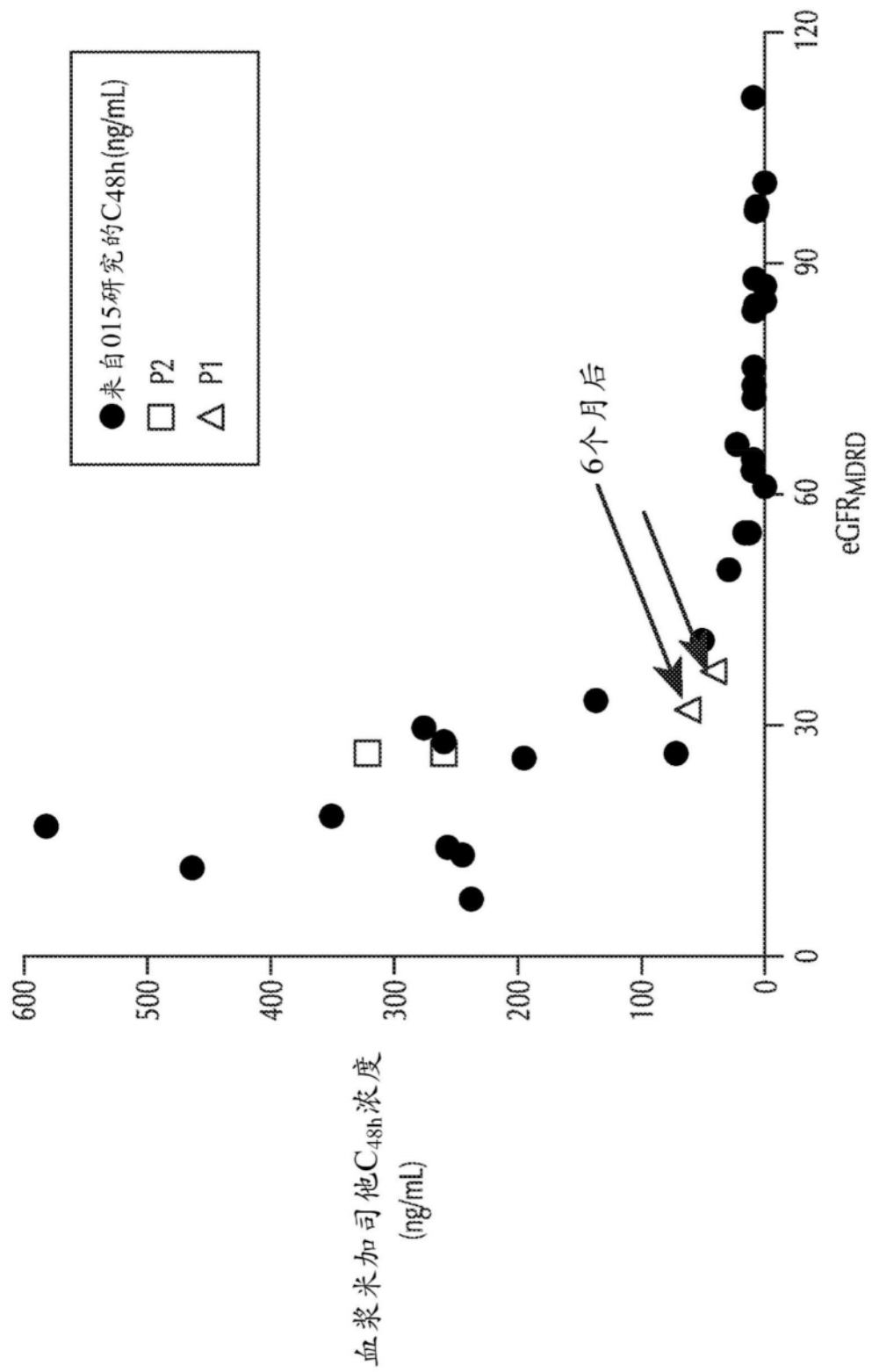


图4

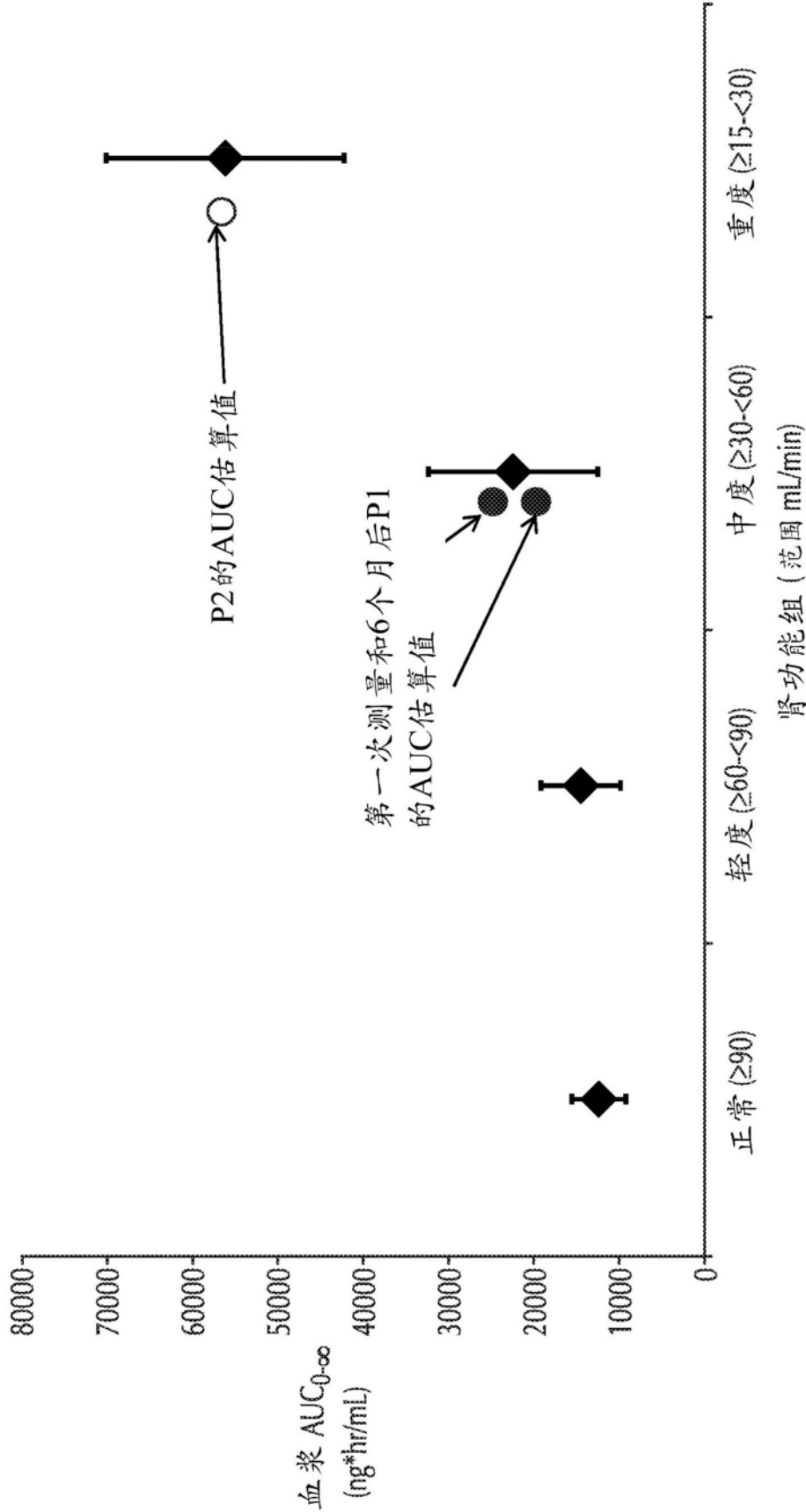


图5

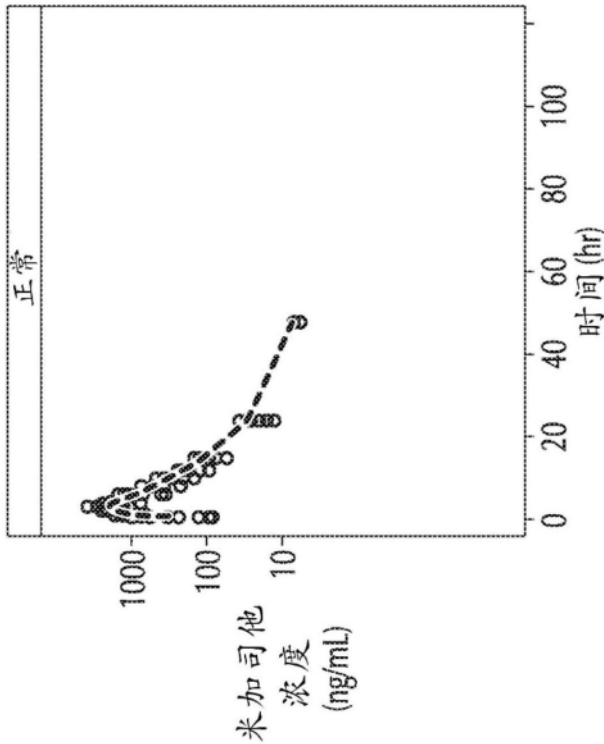


图6A

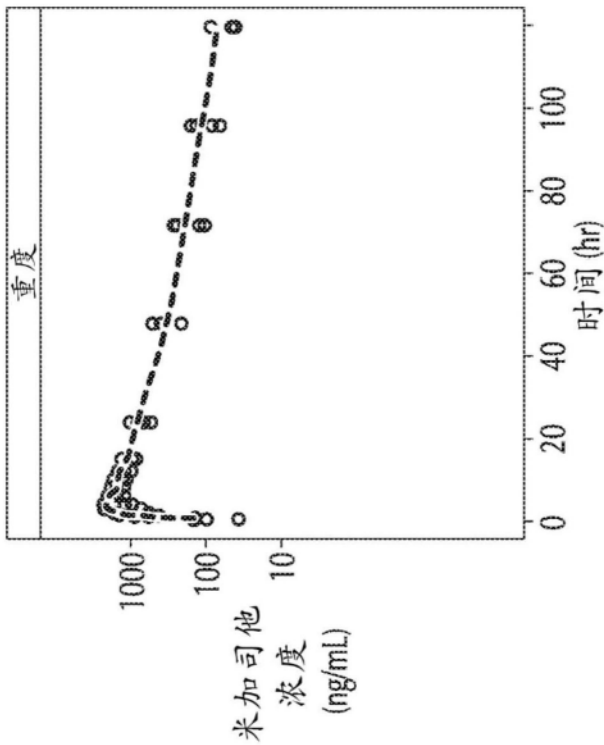


图6B

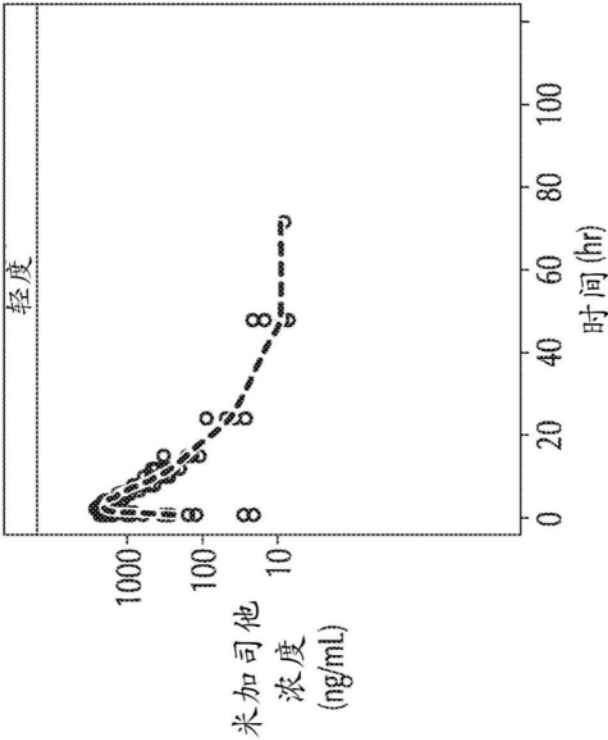


图6C

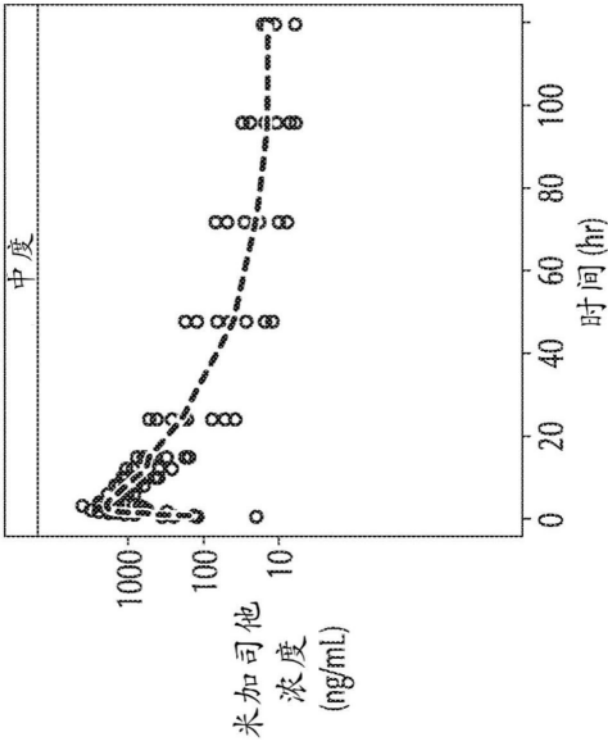


图6D

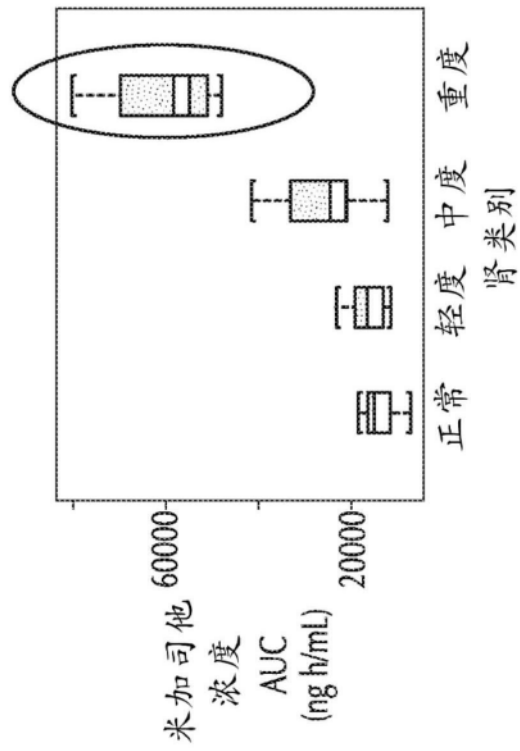


图7A

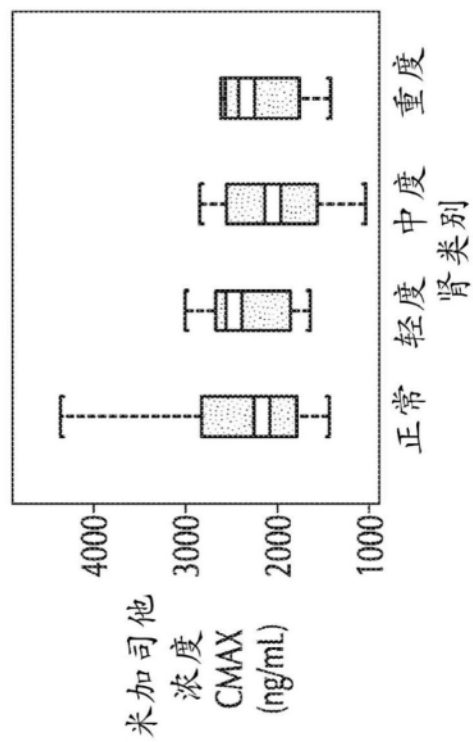


图7B

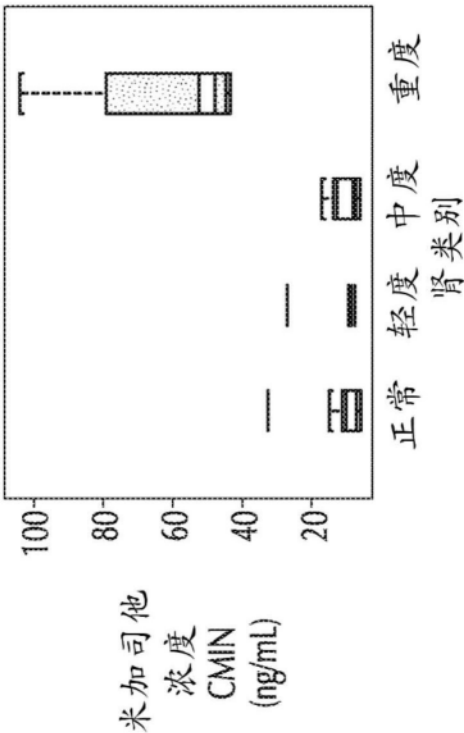


图7C

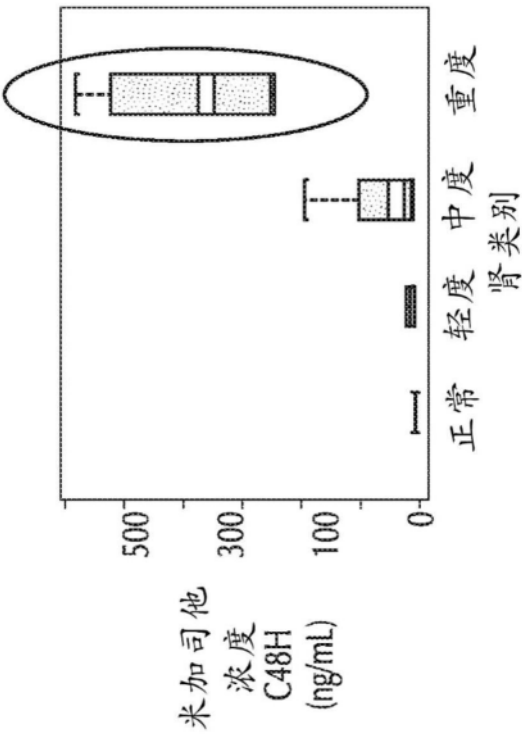


图7D

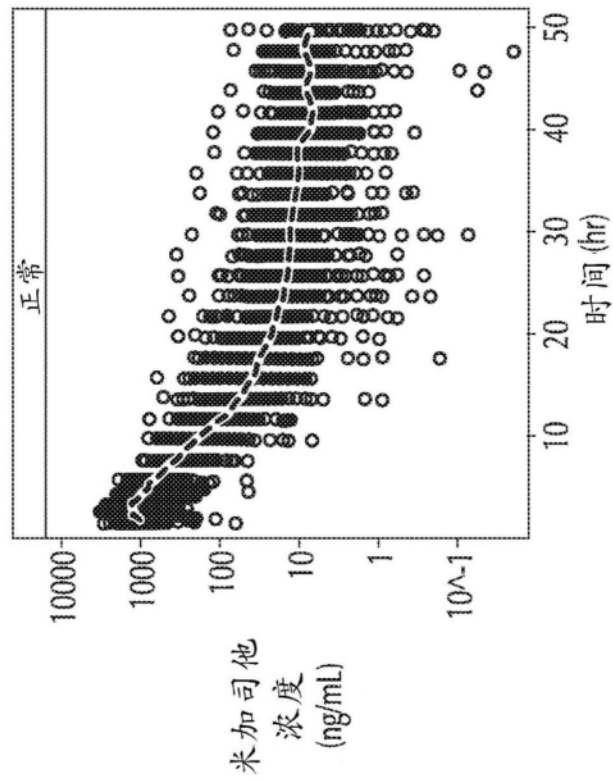


图8A

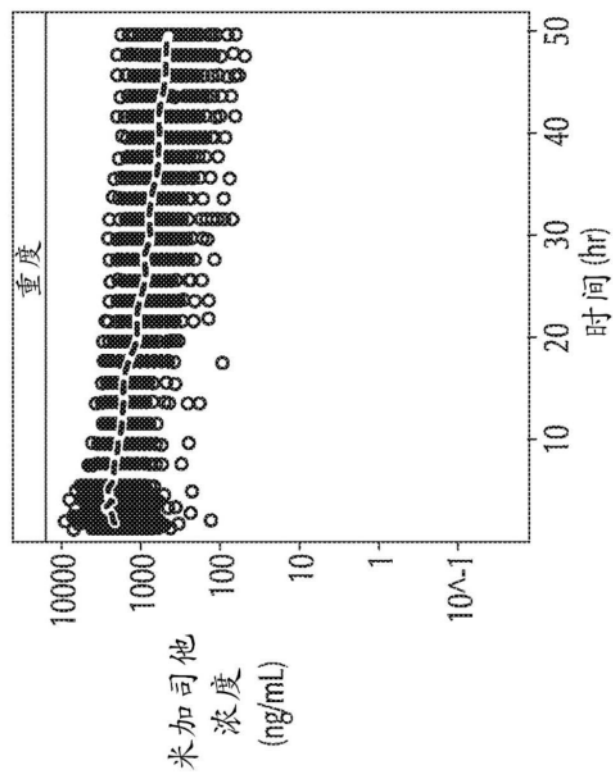


图8B

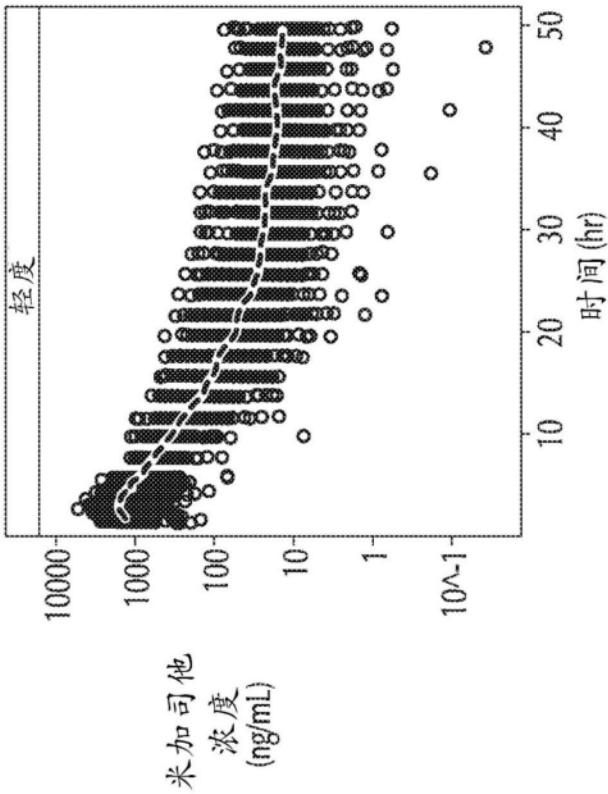


图8C

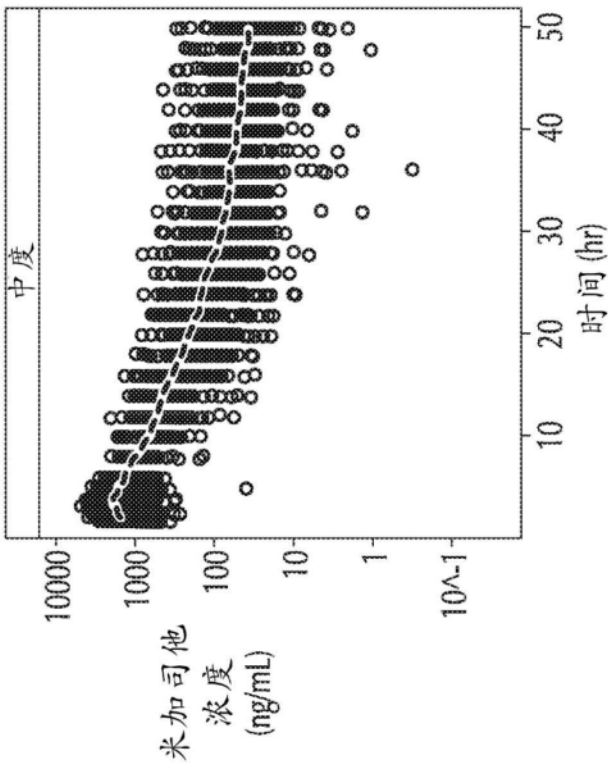


图8D

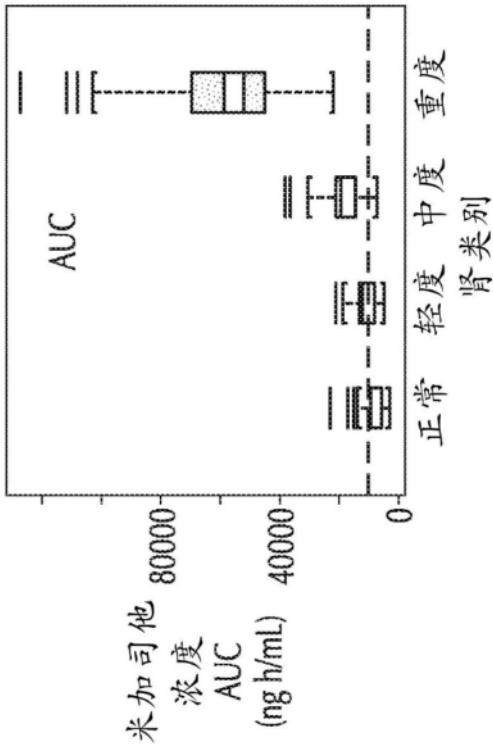


图9A

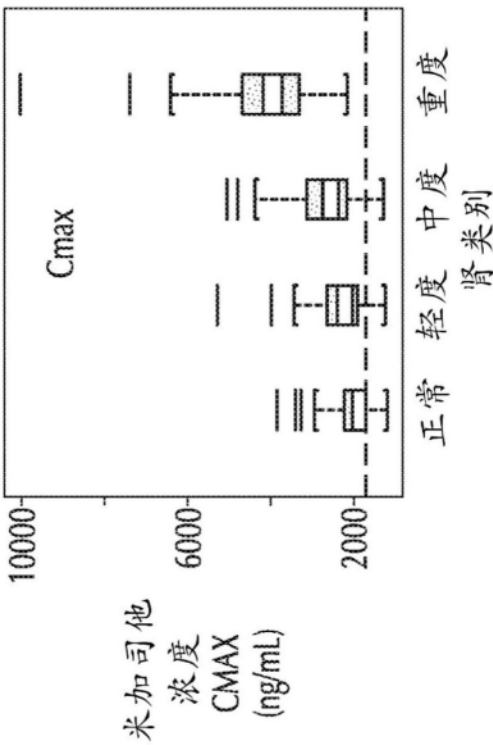


图9B

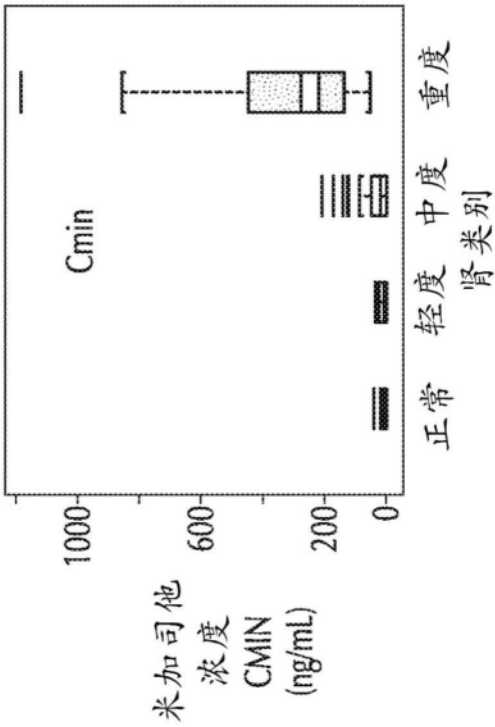


图9C

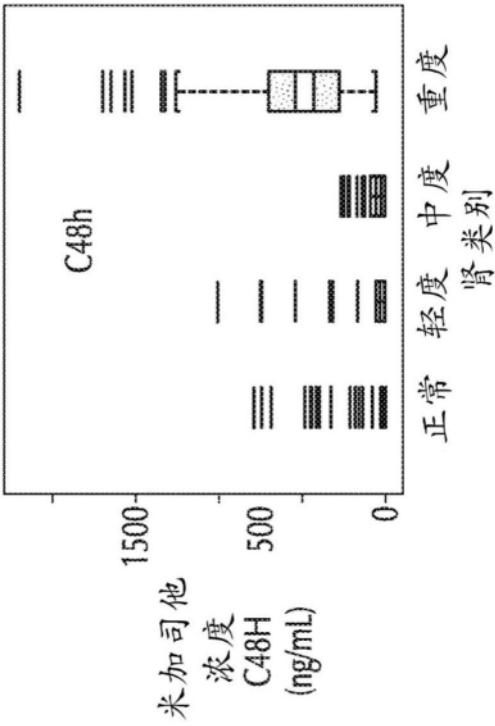
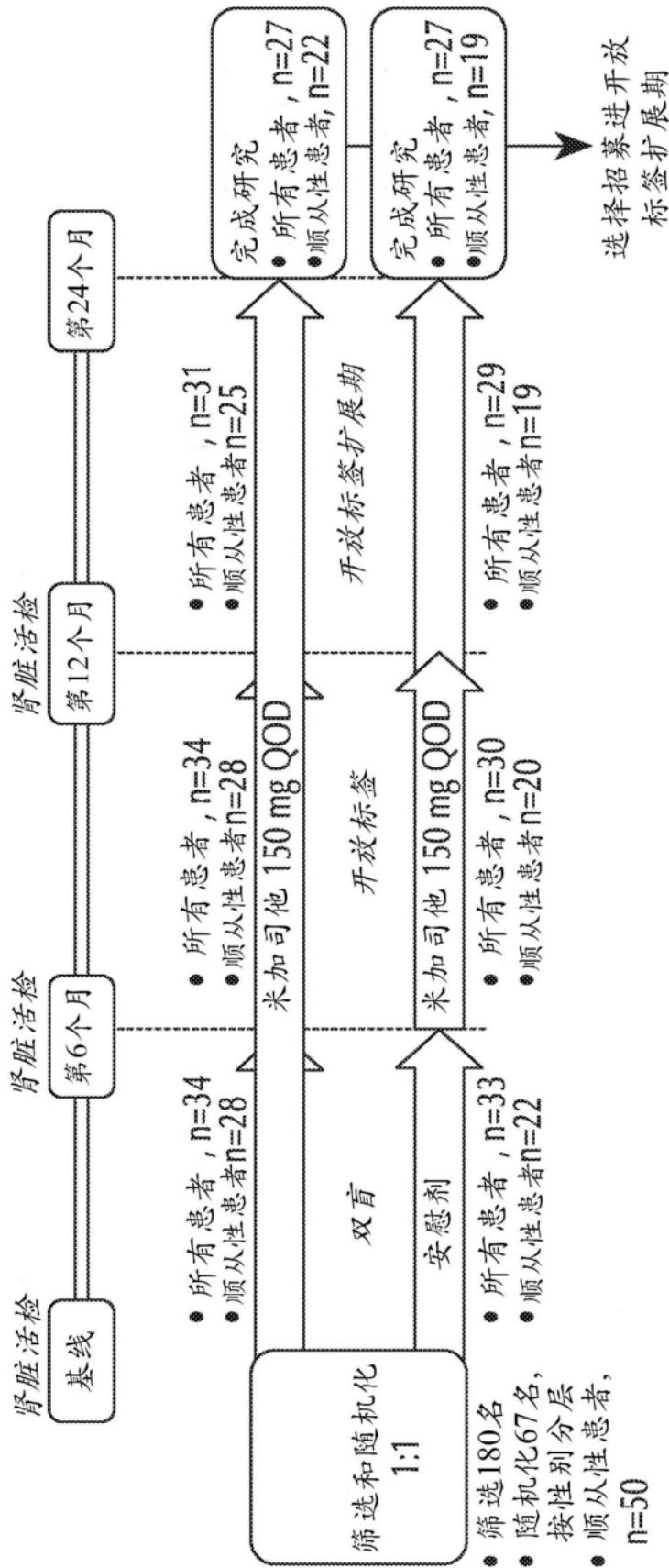


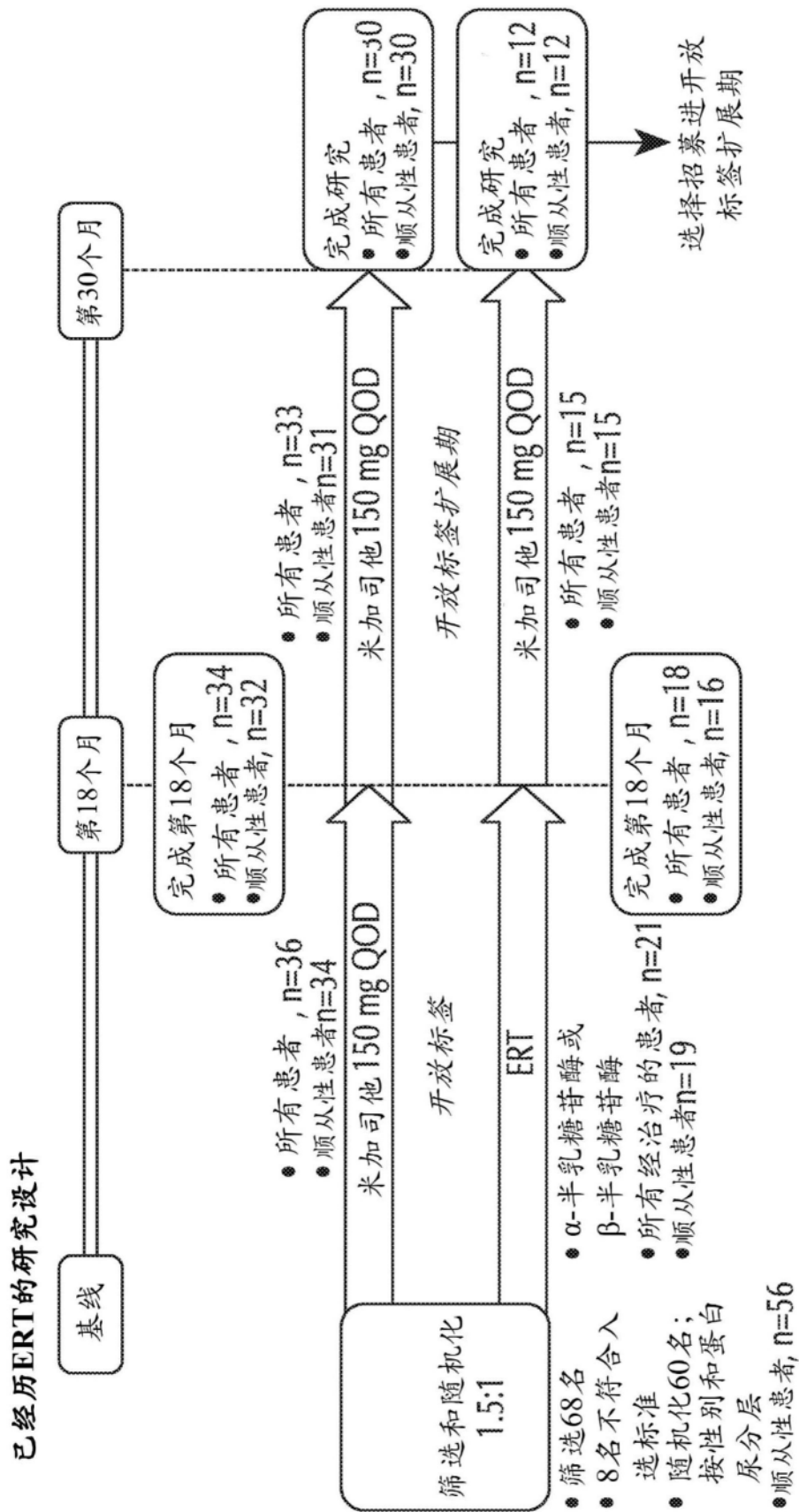
图9D

ERT初治研究设计



使用GLP验证的HEK测定确定顺从性, 该测定在3期研究期间可用, 代替了用于招募患者的初步HEK测定。
Germain DP 等人 *N Engl J Med.* [新英格兰医学杂志] 2016;375(6):545-555。

图10A



使用GLP验证的HEK测定确定顺从性, 该测定在研究期间可用, 代替了用于招募患者的初步HEK测定。
Hughes DA 等人 *J Med Genet.* [医学遗传学杂志] 2017;54:288-296。

图10B

无论基线eGFR如何，米加司他都稳定肾功能
(具有顺从性突变的患者)

依据亚组的eGFR_{CKD-EPI}年变化率

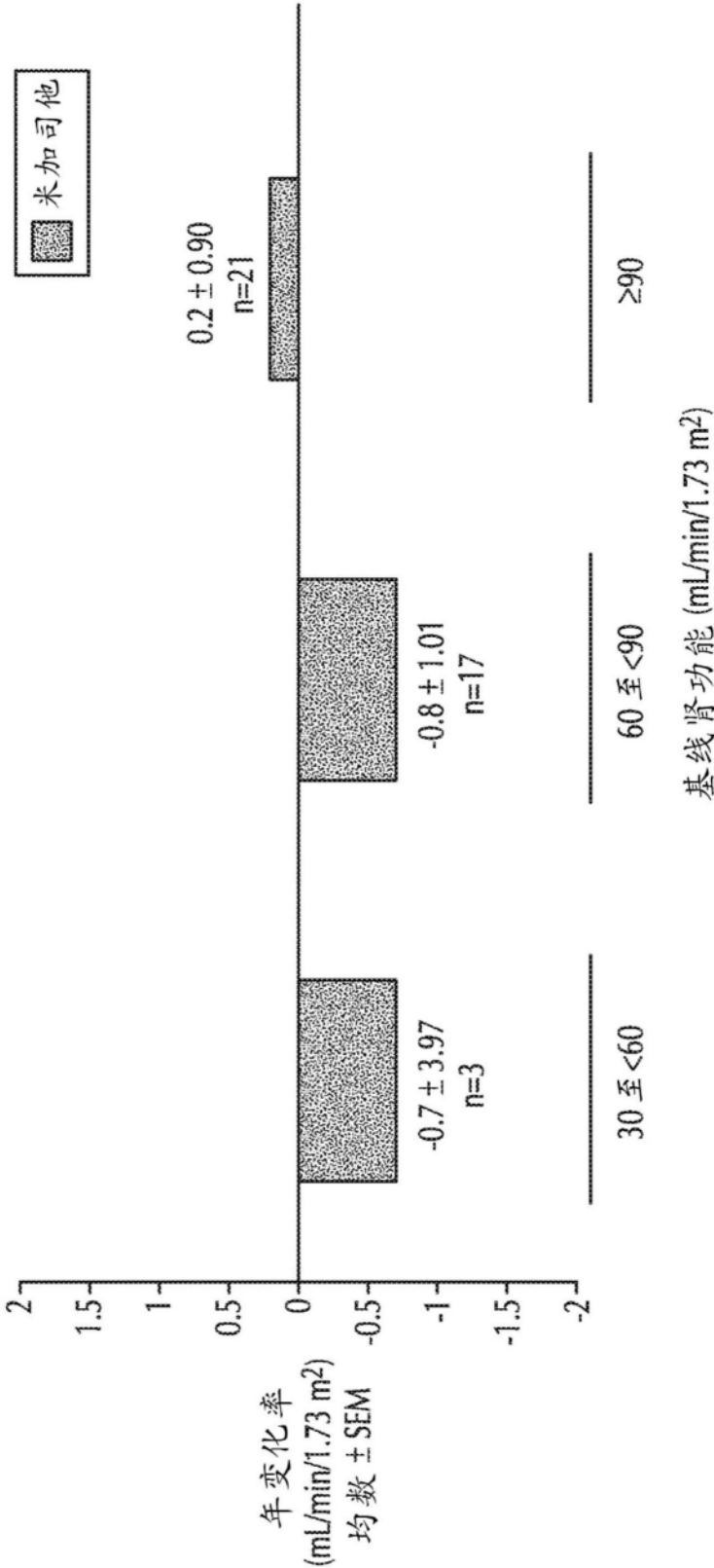


图11

在第18个月时，使用两种GFR方法，米加司他和ERT对肾功能具有相当的有利作用（具有顺从性突变的患者）

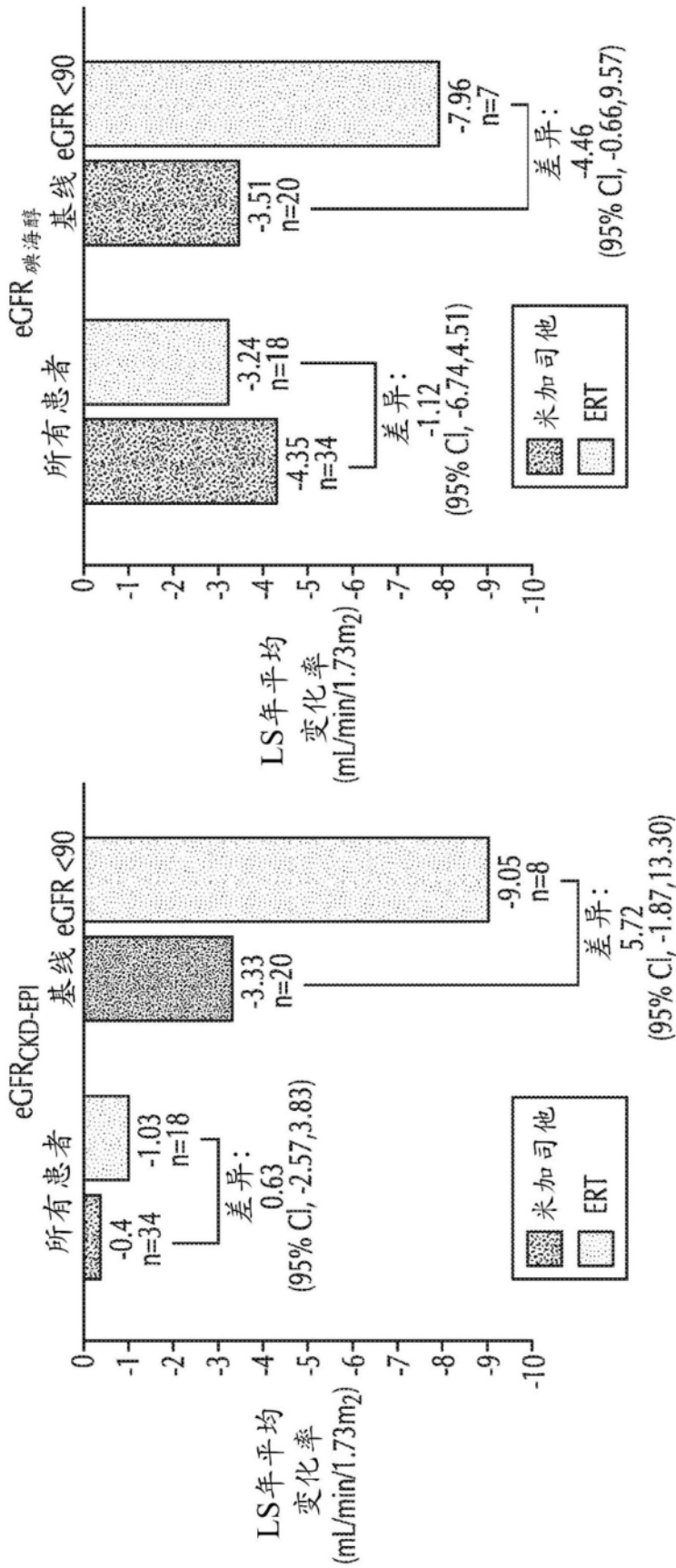


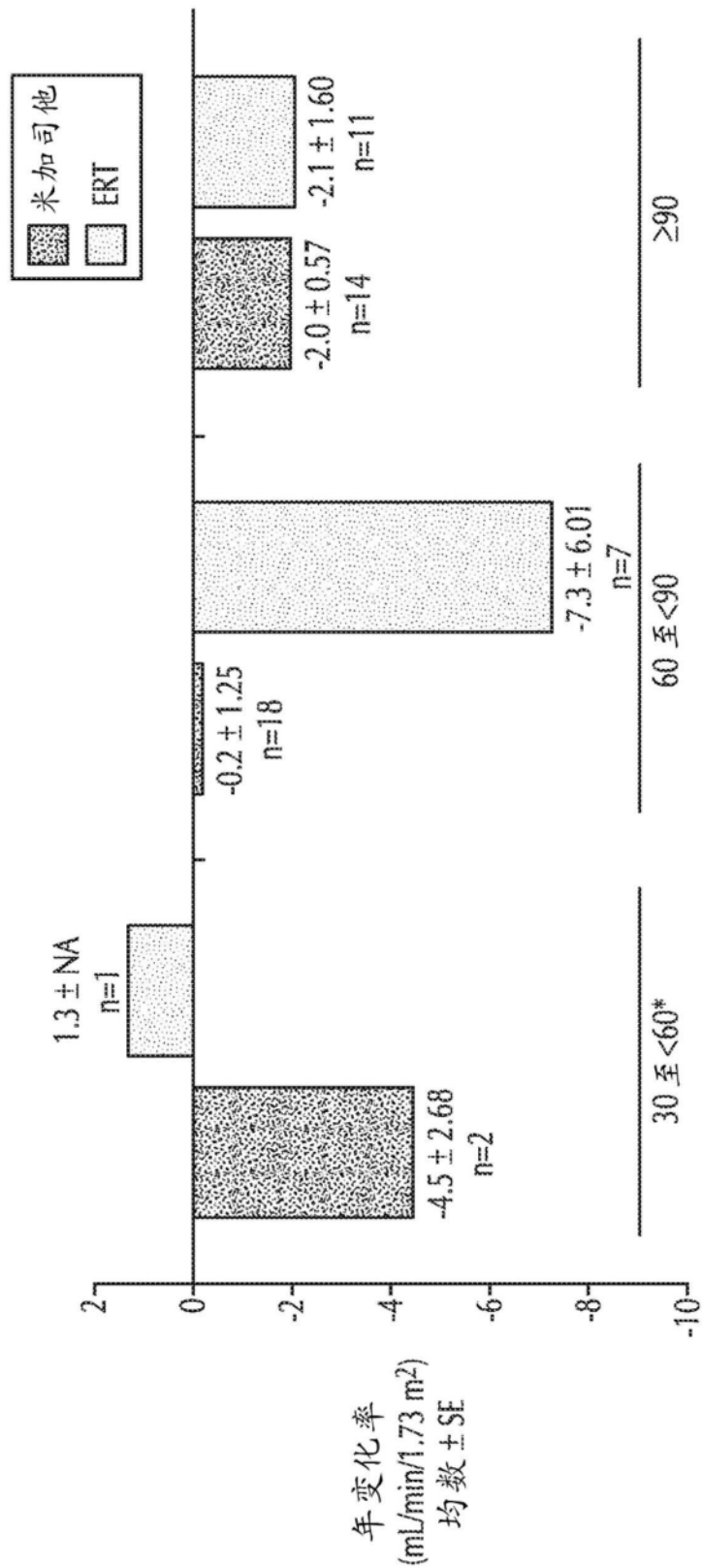
图12A

包括治疗、基线GFR、性别、年龄和24小时尿蛋白的基于ANCOVA的LS均数和95% CI。
LS = 最小二乘。

图12B

包括治疗、基线GFR、性别、年龄和24小时尿蛋白的基于ANCOVA的LS均数和95% CI。
LS = 最小二乘。

依据基线eGFR的eGFR_{CKD-EPI}年变化率



基线肾功能 (mL/min/1.73 m²)
* 因为n低而不确定

图13

cccttctgtaggggcagagaggttctacttcattactgcgtctcctgggaaggccatcag	60
gactgctggctaaagtgggaaccaggactctttgtgagttaagaatttgtgtatttatat	120
gtgtgttatatacacatttttttaaaaaactgtaacgacatcagggttgagcagtcgtctcgg	180
gtggtgaattatgtgtatttttaaaattttatactatattgttatttttcaaagtgtcgaa	240
attgaatatgtagattgttggtatcagcagaaaaataaacattattcaaatactctattc	300
agtaaagtaatttattggggcgcctttgtcaagcacgcatttgcctagatgtgactctaca	360
gataaaattcacttggggcctccccttacagacaatcaggcagtgagactgagtgcctg	420
aatggatagaccagcactcagaccactattttcagtatctgtttttcttaactcagggcc	480
gtggtttttcaaagctttttcgccttacgggtcaccccttaggggtcccccgagaccggcccag	540
acagacagatatacaaaaaacacatacacagtcattgagcgtccaccatttccccaccaggc	600
gcagcacaggcggcttcccggcactgagatgggggggaggaggagagagcgcgagggggg	660
gaggggaaagcagagaacgaaagaggcggaggcggccccgaaccccgctctggtcttca	720
tcataccacccctgggtccccagttcccacccacacaccaacctctaacgataccgggt	780
aattttcctccttcttccctcaaacggctatagcgagacgggtagacgacgaccagaacta	840
cttctgctcacgtaagcagagtaatcacgtgagcgcctacgtcatgtgagatctcggtcac	900
gtgagcaactctcggcttaaactcgggatcactaagggtgcgcgacttcttctggtatgg	960
aaatagggcgggtcaatatcaagaaaggaagagggtgattgggttagcggaacgtcttacg	1020
tgactgattattgggtctacctctggggataaacggtcccagttgccagagaaaacaataacg	1080
tcattatttaataagtcacgggtgattgggtccgcccctgaggttaattctaaaagcccag	1140
gttaccgcgggaaatttatgctgtccgggtcacccgtgacaatgcagctgaggaaccagaa	1200
ctacatctgggctgcgcgcttgccgttccgttccctggccctcgtttctctgggacatccct	1260
ggggctagagcactggacaatggattggcaaggacgcctaccatgggctggctgcactgg	1320
gagcgttcatgtgcaaccttgactgccaggaagagccagattcctgcatcagggtatcag	1380
atattgggtactcccttccctttgcttttccatgtgtttgggtgtgtttggggaactgga	1440
gagtcctcaacgggaacagttgagcccgaggagagctccccaccgcactctgctgctgc	1500
tttttttatccccagcaaaactgtcccgaaatcaggactagccctaaactttctctgtgtgac	1560
ctttcctgggatgggagtcgggccagcggccctgtttctttctctctctctctctctct	1620
cgttctccttctctttctctttctcttcttctctctctctctctctctctctctctct	1680
ttctcttttttcaactgctccttgccagagcaggggccaccccataggcagtggtgccaaagt	1740
agccctgcccgggtctattcagaccctcttgtgaacttctgctcttccctctgcgggtg	1800
ctaaccgttagaacatctagggtgggtaggaggaatggggaaactaagattcgtgccattt	1860
tttctccttttggggtcgtggatttctcggcagtatctcgaggaggttagagagaccata	1920
aggctcgtgagatctctccacctcgcccatgagcgtggcatcaggctggaagggtgaca	1980
tggaggaactttatacatttacacctttgcgtgaggggtgaggctggattagatagggtat	2040
tgaacatatctgacctcacaatccttatctgtaaattgggattacaaccttttaatttc	2100
agggagctgacaaaaaaaatctgaaaaatagttcttatctcacacaggtgagttttcaag	2160
gagataacctattttaagtacatagcacagcgttgaccattcaactgcgcttacagagc	2220
aatgttcaatgggaaaaatgaatgtaaatctacaaatctgaatgaatatgtgtatttttc	2280
tggagagaggatatttacctttcttcaaattctcaaagggtctgtgatttaaaaaagggt	2340
taggaatcactgatagatgttggtaaaagggtggcagtcacagtcacatttctgtgtccata	2400
agttattcctatgaatatctttatagataaagtcaggatgttggtcagacatcacagaag	2460
aaattggccttgtaagtttcatgtgacctgtgggtacagtatgtgtggcaattttgcca	2520
tcacggatttttttttattgggtatttgcattctgattataaaaactaatgcattgattgc	2580
aaaaaatgtagataaagaagagcaaaatgaaaataaagatttccccccaccggtccacca	2640
cccagaaataatcatggtttaaatgttaatatacaaccttacaattgttttctatataaa	2700
tgaaaacatagatttctttatttctatttttccataaaaaatggatcatgtttatgtca	2760
tggttggctaatggcaagacctggcaccagctcgggtcctcaaatctgcctcattgtta	2820
cttagccctgtgacattgggtaaattacacttttttttttttttttttttttgagacgggg	2880

图14A

tctcgctctgtcgcccaggetggagtgcagtggaacgatctcggtcactgcaagtcgcg	2940
ctcctgggttcacgccattcttctgcctcagcctcccagtagctgggactacaggcgcc	3000
tgccaccacgcctggctcttttttttttttttttttttttttagtacagacggggtttcac	3060
catgttagccagggtggtctcaatctcctgacctcgtgattcgccgcctcagcctccca	3120
aagtgcctggtgtgagccaccgtgcccagccttacttttttttttgagagggggtctcact	3180
ctgtcaccacaggttgagtgagtgccgcgatctctgctcagtgcaaacctccacctcccg	3240
ggtttaagcagttctcctgtcgttagtctcctgagtagctgggattacaggcacaccacca	3300
cggccagctaatttttgtattttcagtagagacgggtttcaccatggtgcccagctggt	3360
ctcgaactcctggcctcaagtgatctgccgccttggcctcccagagtgtgggattaca	3420
ggtgtgagccaccgcacccggcctctttttttcttttttagtctatcataccttgcaaata	3480
cagtggttcttctctatgtgttggttttgatattttatgtaatcaaacacatcagtttttcc	3540
tttctgatttctgactttggggcatgctgagaaagtcttttctacctgaagataatac	3600
agtatatacgtttcttactagtatttttgtggatttttaaaatatttaaatcttttagtcc	3660
atctgaactgtttcttctatcagaaatgccacatttaataaataaataagtcocatgggat	3720
cagatggctggaaggacctctttcgaaactttgtttaattccattaatctgtgtattctt	3780
attctaattgctaatagtttccacactagcttcttcttcttcttttttttttttttttt	3840
ttttgagctggagtttcgctcttgttgcccaggctggagtacaatgtcacgatctcggtt	3900
caccgcaacctccgcctcccaggttcaagcaattctcctgcctcatcctcgcgagttagct	3960
ggaattacaggcatgcgccaccacgcctagctattttgtatttttagtagagatggggtt	4020
tctccatggttggtcaggctggtctcaaacctcccagcctcaggtgatctgcctgcctcggc	4080
ctcccaaaatgctgttattacaggcgtgagccaccacgcctcctcatcttttaataatga	4140
atgtacatgtatgtaattcttttaggtgaactttttgtaatggttggtgccaagttccttaa	4200
aagcccttttggaagctgggcaggtggccacgcctgtaatcccagcattttgggagctctg	4260
aggcaggtggatcacttgaggccaggagttcaagactagcctagccaaaatgcaaaaacc	4320
tgtctctactaaagatacaaaaattagccggatgcgatggcacatgcctgtaatctcagc	4380
tactcgggaggctgaggtagaagaatcgcttgaaocggggaggcagaggttgacgtgagc	4440
aagatggcgccactgcactccagcctgggtgacagaggagagactccatctcaaaaaaaaa	4500
aaaaaaaaaaaaagataaaaaaggaaacctaaagtactcttgggctttgttaaggattttgtt	4560
aaatatacaaaggattgcagggaataaacttatttttaataattgagtatgcttatcca	4620
agagcaaaaataatatttctccatttattcaaatcatttaggagcatcatagttttaacat	4680
atgggccttgccagctatcttaaaatttatctctaggaatttttaggttggttcagttgttctt	4740
gtgaatgggatctttttctccaaataggattattgttgatatctgttgattatgttaact	4800
ttgtagtttctgactttactgaactgtctcttagatctaatactcttttcaatttcac	4860
atatatttctcattcctattttgtttggggtttttaggggcggaatattaacgggataag	4920
agagacaaaagaaaatctggaaaaaacaattcattttaccttacattgcttggtgattacta	4980
ccacactattactgggttggaaaaaattgtgaaatcccaaggtgcctaataaatgggagg	5040
tacctaaagtgttcatttaataatgaattgtaattgattattggaatttctctttcagtgagaag	5100
ctcttcattgagatggcagagctcatggtctcagaaggctggaaggatgcagggttatgag	5160
tacctctgattgatgactgttggtggtcctcccaagagattcagaaggcagacttcag	5220
gcagaccctcagcgctttcctcatgggattcgccagctagctaattatgtgagtttatag	5280
ataatgttcttggttcattcagaggactgtaagcacttctgtacagaagcttggttagaaa	5340
cagccctcatggccgggctggtggtcacgctgtaatcccaacactttgggaggccgag	5400
gcggttggtacactgaggtcaagagttcaagaccagcctggccaacatggtgaaacccc	5460
aactctattaaaagtacaaaaaattagctgggcattggtggtgaacgcctgtaaccccagc	5520
tacttgggaggctgaggcaggagaatcgcttgaaaccaggaggtggaagtttcagtgagc	5580
tgagatcacgccattgcactctagcctgggcaacaaaagagaaactccatctcaaaaaaa	5640
aaaacaagggaagaaaaagaaacagccctcatgacacttagaaagtagaatagctggctgtt	5700
atctgaacattgaattgtaaggcttatcaggtggactttgcattccatcagcagacaatt	5760

图14B

tctatcaacagtccttccaccagtatctctctaaaaatatctcctgaatcagcccacttcctt	8700
ccatcttccactacatgcaccctggccttccaagctactatcggtctcaccagactgct	8760
gggaccacctgatctctctgcttccactctgtctcaacccccatctattttccaagcagc	8820
actagagttatcatattaaaaatgtaaatatcagtttttttttaaagaaaaaacctga	8880
gacttaacagagttataaaaaatataaatgtcatcatcagttccctgcttaaaaccccta	8940
actcgttcccaattgcacttgggaatgaaaccaaactgcactgatccagcccttgccctgcc	9000
tccccaaagtccaaggggtcatggctctttccctggctacactggttttctttctgtccc	9060
tcaacactgcaagcctattgctgccccagggcctttacacttgctttttttctgcctaga	9120
acagttcttccccaaagatttttaaagggccgggctccttaacattgaagtgcgagacca	9180
aacgccacatatgcagacagttcttctctaaactactttaaaatagccctctgtccattca	9240
ttcttcacacattaacctggttaattttcttctcagagctccacactatttggaagtat	9300
ttgttgacttggttaccatgtctccccactagagtgtaagtttcatgagggcagggacctt	9360
gtctgactttgactgtatctctcgcataatgggttaagtgttaaatagttatttatggaatg	9420
aatccctattattccctcattatctctgcaaaatagtcttttttctcaacatcttaaac	9480
tgatatcccaacctgcctatctacaaaacttttttttggcgacagagttctcactgtcaccca	9540
ggctagagtgcaagtggcgccatctcggctcactgcaacctccgcctcccggttttaagcg	9600
attctcttgccctcagcctcccagtagctgggatttataggcgctgcgctaccacatctggct	9660
aatttttgtatttttagtagagatgggttccaccatggtggccaggttgctctcgaactcc	9720
tgacctcagatgatccacctgcctccgcctcccaaagtgtgggattacaggcatgagcc	9780
accgtgcccagcctctacaaaactttttattccattaacaaaactatatgctgggatttaag	9840
ttttcttaatacttgatggagtcctatgtaattttcagagcttttaattttactaagacca	9900
ttttagttctgattatagaagtaaatcaactttaagggatttcaagttatatggcctact	9960
tctgaagcaaaccttcttacagtgaaaattcattataaggggttagacctccttatggaga	10020
cgttcaatctgtaaacctcaagagaaggctacaagtgcctcctttaaactgttttcatctc	10080
acaaggatggttagtagaaagtaaacagaagagtcatactctgttttccacagcccaattata	10140
cagaaatccgacagtaactgcaatcactggcgaaattttgctgacattgatgattcctgga	10200
aaagtataaagagtatcttggactggacatcttttaaccaggagagaattggtgatgttg	10260
ctggaccaggggggttggaatgaccagatatggtaaaaacttgagccctccttggtcaag	10320
acctgcggttaggcttggtttcctattttgacattcaaggtaaatcacaggtaaagtctctg	10380
ggaggaggctttatgtgagagtaacttagagcaggatgctgtggaaagtgggtttctccata	10440
tgggtcatctaggttaactttaagaatgtttcctcctctctgtttgaattatttcattct	10500
ttttctcagttagtgtattggcaactttggcctcagctggaatcagcaagtaactcagatg	10560
gccctctgggctatcatggctgctcctttattcatgtctaatgacctccgacacatcagc	10620
cctcaagccaaagctctccttcaggataaggacgtaattgccatcaatcaggaccccttg	10680
ggcaagcaagggtagcagcttagacaggtaaatagagtatatattttaagatggcttta	10740
tatacccaataaccaactttgtcttgggcctaaatctattttttcccttgctcttgatgt	10800
tactatcagtaataaagcttcttgctagaaacattactttatttccaaaataatgctaca	10860
ggatcattttaatttttctacaagtgttgatagttctgacattaagaatgaatgccaa	10920
actaacagggccacttatcactagttgctaagcaaccacactttcttggtttttcagggga	10980
gacaactttgaagtgtgggaacgacctctctcaggcttagcctgggctgtagctatgata	11040
aaccggcaggagattggtggacctcgtctcttataccatcgcagttgcttccctgggtaaa	11100
ggagtggcctgtaatcctgctgcttcatcacacagctcctccctgtgaaaaggaagcta	11160
gggttctatgaatggacttcaaggttaagaagtacataaatccacaggcactgttttg	11220
cttcagctagaaaaatacaatgcagatgtcattaaaagacttactttaaaatgtttttt	11280
attgccaaactactacttctgtccacctttttctccattcactttaaaagctcaaggcta	11340
ggtggctcatgcctgtaatcccagcacttttgggaggctgaggcgggcagatcacctgagg	11400
tcgggactttgagaccgcctggacaacatggtgaaaccccatttctaataaaaaatataa	11460
aaattagccaggtgtggtggcgacactgtggtcccagctactctgggggctgaggcatga	11520

图14D

gaatcgcttgaacccgggagtgagggttgacattgagctgagatcatgccacctcactcca	11580
gcctgggcaacaaagattccatctcaaaaaaaaaaaaaaaaaagccaggcacagtggctcatg	11640
cctggaatcccagcacttttggaaagctgaggcaggcagatcacttgagggttaggatttca	11700
agaccagcctggctaacaatagtaaagccctgtctctactaaaaatacaaaaaattagccag	11760
gtatggtggcgagcttctgttagccccagctactcaggagactgaggcaggagaatcactt	11820
gaacccgggaagtgggggggtgcagtgaaccaagatcacgccactgcattccagcctggg	11880
caacagagcaagactccatctcaaaaaaaaaaagttctatttcccttgaataaaaattttcgg	11940
aagtttaaaacttttaggaataaaaactattaaaaccctgattttactcatccagatacccacc	12000
cccttggtgagattctctcccaattatcaaaatgtgtagcatatttaactaccaagagct	12060
aaacatcattaagactgaaatgtattaagaaggatgtataggccaggcacgggtgtctcac	12120
gcctgtaatcccaacacttttgggaggcccaagtcgggaggatcacgaggtcaggagatgga	12180
gaccatcctggccaacatgggtgaaacccctctctactaaaaatacaaaaaattagccagg	12240
cagggtggcaggcacctgtaatccagctactccagaggctgaggcaggacaatcacttga	12300
acctgggaggcagaggctgcagtgagctgagggtgtaccaattgcactccagcctaggta	12360
acgagcaacactccatctcaaaaaaagaaaaaaaaaagatgtataatttggaactgtta	12420
agaggcatttttaaaga	12436

图14E

MQLRNPELHL	GCALALRFLA	LVSWDIPGAR	ALDNGLARTP	TMGWLHWERF	MCNLDCQEEP	60
DSCISEKLFM	EMAELMVSEG	WKDAGYEYLC	IDDCWMAPQR	DSEGRLQADP	QRFPHGIRQL	120
ANYVHSKGLK	LGIYADVGNK	TCAGFPGSFG	YYDIDAQTFA	DWGVDLLKFD	GCYCDSLENL	180
ADGYKHMSLA	LNRTGRSIVY	SCEWPLYMWP	FQKPNYTEIR	QYCNHWRNFA	DIDDSWKSIIK	240
SILDWTSFNQ	ERIVDVAGPG	GWNDPDMLEI	GNFGLSWNQQ	VTQMALWAIM	AAPLFMSNDL	300
RHISPAKAL	LQDKDVIAIN	QDPLGKQGYQ	LRQGDNFEVW	ERPLSGLAWA	VAMINRQEIG	360
GPRSYTIAVA	SLGKGVACNP	ACFITQLLPV	KRKLGFYEWT	SRLRSHINPT	GTVLLQLENT	420
MQMSLKDLL						429

图15