

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6230160号

(P6230160)

(45) 発行日 平成29年11月15日 (2017.11.15)

(24) 登録日 平成29年10月27日 (2017.10.27)

(51) Int. Cl. F I
A 6 1 K 38/47 (2006.01) A 6 1 K 38/47 ZMD
A 6 1 P 25/00 (2006.01) A 6 1 P 25/00
A 6 1 P 43/00 (2006.01) A 6 1 P 43/00 1 1 1

請求項の数 7 (全 141 頁)

(21) 出願番号 特願2014-560086 (P2014-560086)
 (86) (22) 出願日 平成25年3月1日 (2013.3.1)
 (65) 公表番号 特表2015-509961 (P2015-509961A)
 (43) 公表日 平成27年4月2日 (2015.4.2)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2013/028608
 (87) 国際公開番号 W02013/130963
 (87) 国際公開日 平成25年9月6日 (2013.9.6)
 審査請求日 平成28年2月26日 (2016.2.26)
 (31) 優先権主張番号 61/606,089
 (32) 優先日 平成24年3月2日 (2012.3.2)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

前置審査

(73) 特許権者 501358172
 シャイア ヒューマン ジェネティック
 セラピーズ インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 O
 2 4 2 1 レキシントン シャイア ウェ
 イ 3 0 0
 (74) 代理人 100139723
 弁理士 樋口 洋
 (74) 代理人 100116540
 弁理士 河野 香
 (72) 発明者 クロンベツ, エリック
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ボ
 ストン

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 1 1 1 型ゴーシェ病を治療するための組成物および方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ベラグルセラゼを含む、1 1 1 型ゴーシェ病に罹患する対象において 1 1 1 型ゴーシェ病に関連する神経パラメータまたは神経症状を治療するための医薬組成物であって、ベラグルセラゼは、1 5 ~ 6 0 U / k g の用量で前記対象に 2 時間未満にわたり静脈内注入により投与され、前記神経パラメータまたは神経症状は、眼球運動パラメータ、聴覚パラメータ、異常聴覚脳幹誘発電位、脳神経麻痺、発作、進行性点頭痙攣、脳波 (E E G) 異常、認知症、認識機能障害、運動失調、筋の協調性喪失、および運動性低下から成る群より選択される、医薬組成物。

【請求項 2】

ベラグルセラゼを含む、1 1 1 型ゴーシェ病に罹患する対象において、1 1 1 型ゴーシェ病に関連する神経パラメータまたは神経症状の進行を防ぐための医薬組成物であって、ベラグルセラゼは、1 5 ~ 6 0 U / k g の用量で前記対象に 2 時間未満にわたり静脈内注入により投与され、前記神経パラメータまたは神経症状は、眼球運動パラメータ、聴覚パラメータ、異常聴覚脳幹誘発電位、脳神経麻痺、発作、進行性点頭痙攣、脳波 (E E G) 異常、認知症、認識機能障害、運動失調、筋の協調性喪失、および運動性低下から成る群より選択される、医薬組成物。

【請求項 3】

ベラグルセラゼを投与された対象において、前記神経パラメータまたは神経症状が評価される、請求項 1 または 2 記載の医薬組成物。

10

20

【請求項 4】

ベラグルセラーゼは、90分以内にわたって投与される、請求項1または2記載の医薬組成物。

【請求項 5】

ベラグルセラーゼは、60分以内にわたって投与される、請求項1または2記載の医薬組成物。

【請求項 6】

前記対象への2時間未満にわたる静脈内注入によって投与される第2のグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法薬と組み合わせて投与される、請求項1または2記載の医薬組成物。

10

【請求項 7】

前記対象は子供または青年である、請求項1または2記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【関連出願の相互参照】

【0001】

本出願は、2012年3月2日に出願された米国特許第61/606,089号に優先権を主張する。先行出願の開示は、本出願の開示の一部であると考えられ（本明細書に組み込まれ）る。

【背景技術】

【0002】

20

ゴーシェ病は、リソソーム酵素のグルコセレブロシダーゼ（GCB）の欠損を特徴とする常染色体劣性リソソーム貯蔵障害である。グルコセレブロシダーゼは、白血球および赤血球の細胞膜中でスフィンゴ糖脂質が分解した後に形成される糖脂質グルコセレブロシドを加水分解する。この酵素中の欠損により、ゴーシェ病患者の肝臓、脾臓、および骨髄に存在する食細胞のリソソーム中にグルコセレブロシドが多量に蓄積する。これらの分子の蓄積により、脾腫、肝腫、骨障害、血小板減少症、および貧血を含む様々な臨床的な症状が生じる。（非特許文献1）。

【0003】

この疾病に苦しんでいる患者のための治療には、骨痛の緩和のための鎮痛薬の投与、血液および血小板の輸血、ならびに場合によっては、脾臓摘出術が含まれる。骨侵食を起こしている患者に対しては、時には関節置換も必要となる。

30

【0004】

グルコセレブロシダーゼによる酵素補充療法が、ゴーシェ病の治療として用いられている。ゴーシェ病に罹患する患者の現在の治療法では、グルコセレブロシダーゼ発現構成体をトランスフェクトしたヒト胎盤またはチャイニーズハムスター卵巢（CHO）細胞から得られた、炭水化物リモデルグルコセレブロシダーゼ（それぞれ、アルグルセラーゼまたはイミグルセラーゼとして知られる）が投与されることが含まれる。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0005】

40

【非特許文献1】Beutler et al. Gaucher disease; In: The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease (McGraw-Hill, Inc, New York, 1995) pp. 2625-2639

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0006】

本開示は、部分的に、ベラグルセラーゼが、対象（例えば、III型ゴーシェ病に罹患する対象）への投与の際、イミグルセラーゼよりも少ない免疫応答（例えば、抗体の産生が少ない、例えば、中和抗体の産生が少ない）を導くという発見に基づく。本発明は、と

50

りわけ、ⅠⅠⅠ型ゴーシェ病に罹患する対象のための治療の選択、ベラグルセラゼ（例えば、単独で、または別の療法と併用して）による治療にふさわしい対象を選択するための組成物および方法、ⅠⅠⅠ型ゴーシェ病の治療を受けている対象における注射部位反応を軽減するための方法、ならびにⅠⅠⅠ型ゴーシェ病を治療する方法に関する。本発明はまた、とりわけ、ⅠⅠⅠ型ゴーシェ病について治療されている対象における、抗体産生、例えば、中和抗体産生を判定する方法に関する。本開示は、少なくとも一部には、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、ベラグルセラゼ、イミグルセラゼ、またはupl y s o（商標））が、血液脳関門を横断することができ、それゆえ、神経パラメータまたは神経症状、例えば、ⅠⅠⅠ型ゴーシェ病に関連する神経パラメータまたは神経症状を治療する、または予防する、もしくはその進行を防ぐことができるということを前提としている。

10

【0007】

いくつかの態様では、本開示は、ⅠⅠⅠ型ゴーシェ病に罹患する対象を治療する方法を特徴とし、本方法は、

対象への、2時間未満、例えば、90分間、80分間、70分間、60分間、50分間、または45分間にわたる静脈内注入によって、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、ベラグルセラゼ、イミグルセラゼ、またはupl y s o（商標））を実施し、それによって該対象を治療することを含む。

【0008】

いくつかの実施形態では、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、ベラグルセラゼ、イミグルセラゼ、upl y s o（商標））は、1回よりも多く実施され、該対象への、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、ベラグルセラゼ、イミグルセラゼ、またはupl y s o（商標））のそれぞれの追加用量は、2時間未満、例えば、90分間、80分間、70分間、60分間、50分間、もしくは45分間）にわたる静脈内投与により投与される。

20

【0009】

いくつかの実施形態では、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、ベラグルセラゼ、イミグルセラゼ、upl y s o（商標））は、15～60 U/kg（例えば、30 U/kg～60 U/kg、例えば、15 U/kg、30 U/kg、45 U/kg、もしくは60 U/kg）の用量で、22.5 U/kg以下の用量で、22.5～37.5 U/kgの用量で、37.5～52.5 U/kgの用量で、または52.5 U/kg以上の用量で、投与される。いくつかの実施形態では、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、ベラグルセラゼ、イミグルセラゼ、upl y s o（商標））は、2.5 U/kg～60 U/kgの用量で投与される。いくつかの実施形態では、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、ベラグルセラゼ、イミグルセラゼ、upl y s o（商標））は、隔週で投与される。他の実施形態では、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、ベラグルセラゼ、イミグルセラゼ、upl y s o（商標））が、毎週実施される。いくつかの実施形態では、ベラグルセラゼは、静脈内注入によって、例えば、2.5 U/kgの用量で、1週間に3回投与される。

30

【0010】

いくつかの実施形態では、1回以上の用量（例えば、本明細書に記載の用量）の注入は、60分にわたって起こる。

40

【0011】

いくつかの実施形態では、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法は、ベラグルセラゼであり、本方法は、

凍結乾燥したベラグルセラゼを注射用滅菌水等の薬学的に許容される担体と再構成（例えば、200単位のバイアルを2.2 mLの注射用滅菌水または400単位のバイアルを4.3 mLの注射用滅菌水と再構成）し、それによって、溶液を形成すること、例えば、バイアルを注射用滅菌水を添加した後に振とうしない；任意に、バイアル中の溶液を検査すること（および、例えば、任意に、この溶液が変色しているかどうか、あるいは、粒子

50

状物質が存在するかどうかを判定すること、および任意に、この溶液が変色している場合、あるいは、粒子状物質が存在する場合、この溶液を使用しないことを決定すること）；事前に選択した用量（例えば、15 U/kg、30 U/kg、45 U/kg、もしくは60 U/kg等の本明細書に記載の用量）を得るために、溶液の容量を抽出すること；例えば、100 mLの静脈内投与に適している0.9%の塩化ナトリウム溶液中の量を希釈し、それによって、希釈溶液を形成すること；任意に、この希釈溶液を軽く揺するが、希釈溶液を振とうしないこと；ならびに静脈内注入によって、対象にこの希釈溶液を投与すること、例えば、この希釈溶液を1時間にわたって、または1 U/kg/分の速度で投与すること、を含む。

【0012】

10

いくつかの実施形態では、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法は、2 U/kg/分、1.5 U/kg/分、1 U/kg/分、または0.5 U/kg/分の注入速度で投与される。

【0013】

いくつかの実施形態では、投与には、在宅療法（例えば、対象の自宅、職場、または他の非臨床的（例えば、非病院）環境における）を含む。いくつかの実施形態では、投与（例えば、注入による）は、医療専門家（例えば、看護婦または医師助手）によるものである。例えば、対象が、例えば、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法の1回、2回、または3回の投与（例えば、注入による）後に有害事象（AE）（例えば、薬物関連の重篤有害事象または注入関連の有害事象、例えば、本明細書に記載の事象）が認められなかった場合、この対象は、その後の投与に対して在宅療法を受けることができる。

20

【0014】

別の態様では、本開示は、対象を、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、ベラグルセラゼ）による治療に適している（例えば、治療の候補者である）として特定するための方法を提供する。本方法は、対象からの試料中の、抗体（例えば、中和抗体）（例えば、IgE、IgM、IgG、および／もしくはIgA抗体）の存在について、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、対象に現在実施されている療法）（例えば、イミグルセラゼまたはuplyso（商標））について評価すること（例えば、ELISAもしくは放射性免疫沈降法（RIP）等の本明細書に記載の方法によって、例えば、測定すること）、および例えば、療法に対する抗体の測定値を標準（例えば、陰性対照）と比較すること、を含む。例えば、対象が、陰性対照（例えば、ELISAにおける、陰性対照）について測定された値より大きい測定された抗体値を有する場合、対象は、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対して抗体を有すると特定される。対象は、任意に、例えば、測定値が、標準よりも、例えば、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、または90%超大きい場合、代替のIII型ゴーシェ病治療（例えば、ベラグルセラゼによる治療）による治療に適していると特定される。

30

【0015】

いくつかの実施形態では、試料は、血液または血清試料である。いくつかの実施形態では、試料は、修正されている。例えば、測定された抗体値は、試料を、分析用試薬、例えば、標識された試薬（例えば、標識グルコセレブロシダーゼ）、および／または基質もしくは細胞、例えば、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対する抗体に結合する基質もしくは細胞と接触させることによって得られたものである。いくつかの実施形態では、測定された抗体値は、抗体のために富化されている試料、例えば、血液または血清試料の濃縮部分から得られた。いくつかの実施形態では、評価は、本明細書に記載の方法によって得られたものである。

40

【0016】

いくつかの実施形態では、本方法は、例えば、本明細書に記載の方法によって、測定された抗体値を測定することを含む。

【0017】

50

別の態様では、本開示は、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法による治療のために、I I I型ゴーシェ病に罹患する対象を選択するための方法を提供する。任意に、本方法は、対象が、I I I型ゴーシェ病のために現在受けている治療に対する、抗体（例えば、中和抗体）の産生の検査で、対象が陽性反応を示すということに基づいて、かかる治療にふさわしい対象を選択することを含む。本方法は、対象からの試料中の、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、対象に現在実施されている療法）（例えば、イミグルセラーゼまたはu p l y s o（商標））に対する抗体の存在を評価すること（例えば、E L I S Aもしくは放射性免疫沈降法（R I P）等の本明細書に記載の方法によって、例えば、測定すること）、またはその評価を得ること、および例えば、療法に対する抗体の測定値を標準（例えば、陰性対照）と比較すること、を含む。例えば、対象が、陰性対照（例えば、E L I S Aにおける、陰性対照）について測定された値よりも大きい測定された抗体値を有する場合、対象は、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対して抗体を有すると特定される。本方法には、任意に、例えば、測定値が、標準値（例えば、陰性対照）より、例えば、5 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、3 5 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、または9 0 %超大きい場合、対象の代替のI I I型ゴーシェ病治療（例えば、ベラグルセラーゼによる治療）を選択することが含まれる。

10

【0018】

いくつかの実施形態では、試料は、血液または血清試料である。いくつかの実施形態では、試料は、修正されている。例えば、この測定された抗体値は、試料を、分析用試薬、例えば、標識された試薬（例えば、標識グルコセレブロシダーゼ）、および／もしくは基質もしくは細胞、例えば、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法について、抗体に結合する基質もしくは細胞と接触させることによって得られた。いくつかの実施形態では、測定された抗体値は、抗体のために富化されている試料、例えば、血液または血清試料の濃縮部分から得られた。いくつかの実施形態では、評価は、本明細書に記載の方法によって得られた。

20

【0019】

いくつかの実施形態では、本方法は、例えば、本明細書に記載の方法によって、抗体値を測定することを含む。

【0020】

いくつかの実施形態では、対象がI I I型ゴーシェ病のために現在受けている治療（例えば、イミグルセラーゼまたはu p l y s o（商標））に対する、I g E抗体の産生の検査で、対象が陽性反応を示している。

30

【0021】

いくつかの実施形態では、対象がI I I型ゴーシェ病のために現在受けている治療（例えば、イミグルセラーゼまたはu p l y s o（商標））に対する、I g M抗体の産生の検査で、対象が陽性反応を示している。

【0022】

いくつかの実施形態では、対象がI I I型ゴーシェ病のために現在受けている治療（例えば、イミグルセラーゼまたはu p l y s o（商標））に対する、I g Gおよび／またはI g A抗体の産生の検査で、対象が陽性反応を示している。

40

【0023】

別の態様では、本開示は、I I I型ゴーシェ病に罹患する対象を治療するための方法を提供する。本方法は、例えば、本明細書に記載の方法によって、対象がI I I型ゴーシェ病のために現在受けている治療に対する、抗体（例えば、中和抗体）の産生の検査で、対象が陽性反応を示したということに基づいて、あるいはI I I型ゴーシェ病のための治療（例えば、イミグルセラーゼまたはu p l y s o（商標））に対して、対象が、抗体（例えば、中和抗体）を発症する危険性があるということに基づいて、対象を選択することと、ベラグルセラーゼを対象に投与することを含む。

【0024】

50

いくつかの実施形態では、対象がⅠⅠⅠ型ゴーシェ病のために現在受けている治療（例えば、イミグルセラゼまたはuplysso（商標））に対する、IgE抗体の産生の検査で、対象が陽性反応を示している。

【0025】

いくつかの実施形態では、対象がⅠⅠⅠ型ゴーシェ病のために現在受けている治療（例えば、イミグルセラゼまたはuplysso（商標））に対する、IgM抗体の産生の検査で、対象が陽性反応を示している。

【0026】

いくつかの実施形態では、対象がⅠⅠⅠ型ゴーシェ病のために現在受けている治療（例えば、イミグルセラゼまたはuplysso（商標））に対する、IgGおよび／またはIgA抗体の産生の検査で、対象が陽性反応を示している。

10

【0027】

いくつかの実施形態では、ベラグルセラゼは、15～60 U/kg（例えば、30 U/kg～60 U/kg、例えば、15 U/kg、30 U/kg、45 U/kg、もしくは60 U/kg）の用量で、22.5 U/kg以下の用量で、22.5～37.5 U/kg、37.5～52.5 U/kgの用量で、または52.5 U/kg以上の用量で、投与される。いくつかの実施形態では、ベラグルセラゼは、2.5 U/kg～60 U/kgの用量で投与される。いくつかの実施形態では、ベラグルセラゼは、静脈内注入によって、隔週で投与される。他の実施形態では、ベラグルセラゼは、静脈内注入によって、毎週投与される。いくつかの実施形態では、ベラグルセラゼは、静脈内注入によって、例えば、2.5 U/kgの用量で、1週間に3回投与される。

20

【0028】

いくつかの実施形態では、用量（例えば、本明細書に記載の用量）の注入は、2時間未満、例えば、90分間、80分間、70分間、60分間、50分間、または45分間にわたって起こる。好ましい実施形態では、用量の注入は、60分間にわたって起こる。

【0029】

いくつかの実施形態では、本方法は、凍結乾燥したベラグルセラゼを、注射用滅菌水等の薬学的に許容される担体等の薬学的に許容される担体で再構成し（例えば、200単位のバイアルを2.2 mLの注射用滅菌水または400単位のバイアルを4.3 mLの注射用滅菌水で再構成する）、それによって、溶液を形成することであって、例えば、バイアルを注射用滅菌水を添加した後に振とうしない；任意に、バイアル中の溶液を検査すること（および、例えば、任意に、この溶液が変色しているかどうか、あるいは、粒子状物質が存在するかどうかを判定すること、および任意に、この溶液が変色している場合、あるいは、粒子状物質が存在する場合、この溶液を使用しないことを決定すること）と、事前に選択した用量（例えば、本明細書に記載の用量、例えば15 U/kg、30 U/kg、45 U/kg、もしくは60 U/kg）を得るために、溶液の容量を抽出することと、例えば、100 mLの静脈内投与に適している0.9%の塩化ナトリウム溶液中の量を希釈し、それによって、希釈溶液を形成すること；任意に、この希釈溶液を軽く揺するが、希釈溶液を振とうしないことと、ならびに静脈内注入によって、対象にこの希釈溶液を投与することと、を含む。

30

40

【0030】

いくつかの実施形態では、ベラグルセラゼは、2 U/kg/分、1.5 U/kg/分、1 U/kg/分、または0.5 U/kg/分の速度で投与される。

【0031】

いくつかの実施形態では、投与には、在宅療法（例えば、対象の自宅、職場、または他の非臨床的（例えば、非病院）環境における）を含む。いくつかの実施形態では、投与（例えば、注入による）は、医療専門家（例えば、看護婦または医師助手）によるものである。例えば、対象が、例えば、ベラグルセラゼの1回、2回、または3回の投与（例え

50

ば、注入による）後に有害事象（A E）（例えば、薬物関連の重篤有害事象または注入関連の有害事象、例えば、本明細書に記載の事象）が認められなかった場合、この対象は、その後の投与に対して在宅療法を受けることができる。

【0032】

別の態様では、本開示は、対象を、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、ベラグルセラゼ）による治療に適している（例えば、治療の候補者である）として特定するための方法を提供する。本方法は、注入部位反応の存在（すなわち、注入関連の有害事象）（例えば、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法の注入から12時間、または12時間以内）（例えば、対象に現在投与されている療法、例えば、イミグルセラゼまたはu p l y s o（商標））について、対象を評価すること（例えば、測定すること）と、例えば、部位反応の測定レベルを標準（例えば、陰性対照）と比較することと、を含む。例えば、対象が、陰性対照（例えば、対象におけるプラセボ注入後に観察される部位反応）について測定した値より大きい、対象がⅠⅠⅠ型ゴーシェ病のために現在受けている治療に対する部位反応の測定値を有する場合、対象は、例えば、対象がⅠⅠⅠ型ゴーシェ病のために現在受けている治療に対する部位反応の測定値が、標準の値より、例えば、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、または90%超大きい場合、代替のⅠⅠⅠ型ゴーシェ病治療（例えば、ベラグルセラゼによる治療）による治療に適していると特定される。

10

【0033】

いくつかの実施形態では、本方法は、例えば、本明細書に記載の方法によって、注入部位値を判定することを含む。

20

【0034】

別の態様では、本開示は、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法による治療のための、ⅠⅠⅠ型ゴーシェ病に罹患する対象を選択するための方法を提供する。任意に、本方法は、対象が注入部位反応の減少（例えば、対象がⅠⅠⅠ型ゴーシェ病のために現在受けている治療、例えば、イミグルセラゼまたはu p l y s o（商標）と関連する、またはそれによって引き起こされる反応と比較して減少）を必要とするということに基づいて、かかる治療にふさわしい対象を選択することを含む。本方法は、注入部位反応の存在（すなわち、注入関連の有害事象）（例えば、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法の注入から12時間、または12時間以内）（例えば、対象に現在実施されている療法、例えば、イミグルセラゼまたはu p l y s o（商標）に対して）について、評価すること（例えば、測定すること）と、あるいは対象の評価を得ることと、例えば、部位反応の測定レベルを標準（例えば、陰性対照）と比較することと、を含む。例えば、対象が、陰性対照（例えば、対象におけるプラセボ注入後に観察される部位反応）について測定した値より大きい（例えば、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、または90%超大きい）、対象がⅠⅠⅠ型ゴーシェ病のために現在受けている治療に対する部位反応の測定値を有する場合、対象は、例えば、対象がⅠⅠⅠ型ゴーシェ病のために現在受けている治療に対する部位反応の測定値が、標準（例えば、陰性対照）に対する値より、例えば、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、または90%超大きい場合、代替のⅠⅠⅠ型ゴーシェ病治療（例えば、ベラグルセラゼによる治療）を選択される。

30

40

【0035】

いくつかの実施形態では、本方法は、例えば、本明細書に記載の方法によって、抗体値を測定することを含む。

【0036】

別の態様では、本開示は、ⅠⅠⅠ型ゴーシェ病に罹患する対象を治療するための方法を提供する。本方法は、対象が注入部位反応の減少（例えば、対象がⅠⅠⅠ型ゴーシェ病のために現在行っている治療、例えば、イミグルセラゼまたはu p l y s o（商標）と関

50

連する、またはそれによって引き起こされる反応と比較して減少)を必要とするということに基づいて、かかる治療にふさわしい対象を選択することを含む。

【0037】

いくつかの実施形態では、ベラグルセラゼは、 $15 \sim 60 \text{ U/kg}$ (例えば、 $30 \text{ U/kg} \sim 60 \text{ U/kg}$ 、例えば、 15 U/kg 、 30 U/kg 、 45 U/kg 、もしくは 60 U/kg)の用量で、 22.5 U/kg 以下の用量で、 $22.5 \sim 37.5 \text{ U/kg}$ 、 $37.5 \sim 52.5 \text{ U/kg}$ の用量で、または 52.5 U/kg 以上の用量で、投与される。いくつかの実施形態では、ベラグルセラゼは、 $2.5 \text{ U/kg} \sim 60 \text{ U/kg}$ の用量で投与される。いくつかの実施形態では、ベラグルセラゼは、静脈内注入によって、隔週で投与される。他の実施形態では、ベラグルセラゼは、静脈内注入によって、毎週投与される。いくつかの実施形態では、ベラグルセラゼは、静脈内注入によって、例えば、 2.5 U/kg の用量で、1週間に3回投与される。

10

【0038】

いくつかの実施形態では、用量 (例えば、本明細書に記載の用量) の注入は、2時間未満、例えば、90分間、80分間、70分間、60分間、50分間、または45分間にわたって起こる。

【0039】

いくつかの実施形態では、本方法は、凍結乾燥したベラグルセラゼを、例えば、注射用滅菌水等の薬学的に許容される担体で再構成 (例えば、200単位のバイアルを 2.2 mL の注射用滅菌水または400単位のバイアルを 4.3 mL の注射用滅菌水と再構成) し、それによって、溶液を形成すること、例えば、バイアルに注射用滅菌水を添加した後に振とうしない; 任意に、バイアル中の溶液を検査すること (おおよび、例えば、任意に、この溶液が変色しているかどうか、あるいは、粒子状物質が存在するかどうかを判定すること、おおよび任意に、この溶液が変色している場合、あるいは、粒子状物質が存在する場合、この溶液を使用しないことを決定すること);

20

事前に選択した用量 (例えば、 15 U/kg 、 30 U/kg 、 45 U/kg 、もしくは 60 U/kg 等の本明細書に記載の用量) を得るために、溶液の容量を抽出すること; 例えば、 100 mL の静脈内投与に適している 0.9% の塩化ナトリウム溶液中の量を希釈し、それによって、希釈溶液を形成すること; 任意に、この希釈溶液を軽く揺するが、希釈溶液を振とうしないこと; ならびに

30

静脈内注入によって、対象にこの希釈溶液を投与すること、を含む。

【0040】

いくつかの実施形態では、ベラグルセラゼは、 2.0 U/kg/分 、 1.5 U/kg/分 、 1.0 U/kg/分 、または 0.5 U/kg/分 の速度で投与される。

【0041】

いくつかの実施形態では、投与には、在宅療法 (例えば、対象の自宅、職場、または他の非臨床的 (例えば、非病院) 環境における) を含む。いくつかの実施形態では、投与 (例えば、注入による) は、医療専門家 (例えば、看護婦または医師助手) によるものである。例えば、対象が、例えば、ベラグルセラゼの1回、2回、または3回の投与 (例えば、注入による) 後に有害事象 (AE) (例えば、薬物関連の重篤有害事象または注入関連の有害事象、例えば、本明細書に記載の事象) が認められなかった場合、この対象は、その後の投与に対して在宅療法を受けることができる。

40

【0042】

いくつかの態様では、本開示は、ベラグルセラゼによる治療のためのIII型ゴーシェ病に罹患する対象を選択する方法を特徴とし、本方法は、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法 (例えば、イミグルセラゼまたはuplysso (商標)) を受けたことがあり、かつ標準よりも血小板数が少ないIII型ゴーシェ病に罹患する対象を特定すること、おおよび

50

対象が標準よりも血小板数が少ないということに基づいて、ベラグルセラーゼによる治療にふさわしい対象を特定すること、を含む。

【0043】

いくつかの実施形態では、本方法は、対象からの試料の、血小板数を評価すること（例えば血小板数を測定すること）、またはその評価を得ること、および血小板数の測定値を標準（例えば、陰性対照）と比較すること、を含む。

【0044】

いくつかの実施形態では、試料は、血液または血清試料である。いくつかの実施形態では、試料は、修正されている。いくつかの実施形態では、測定された抗体値は、血小板のために富化されている試料、例えば、血液試料の濃縮部分から得られた。いくつかの実施形態では、評価は、本明細書に記載の方法によって得られたものである。

10

【0045】

いくつかの実施形態では、本方法は、例えば、本明細書に記載の方法によって、血小板数を測定することを含む。

【0046】

いくつかの実施形態では、本方法は、例えば、本明細書に記載の用量および／または投与スケジュールで、ベラグルセラーゼを対象に投与することをさらに含む。

【0047】

いくつかの実施形態では、ベラグルセラーゼは、静脈内注入によって、2時間未満、例えば、90分間、80分間、70分間、60分間、50分間、または45分間投与される。いくつかの実施形態では、注入は、2 U/kg/分、1.5 U/kg/分、1 U/kg/分、または0.5 U/kg/分の速度で起こる。

20

【0048】

いくつかの実施形態では、標準は、 80×10^3 血小板/mm³ 以下の血小板数である。いくつかの実施形態では、標準は、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法による治療から6ヶ月、9ヶ月、または12ヶ月後の平均血小板数の増加の割合に基づく。例えば、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば9ヶ月間、例えば60 U/kgの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、平均血小板数が治療から9ヶ月または12ヶ月後、80%、75%、70%、65%、60%、または55%未満増加した対象は、ベラグルセラーゼによる治療向きであると特定される。別例として、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば6ヶ月間、例えば60 U/kgの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、平均血小板数が治療から6ヶ月後、40%、35%、30%、または25%未満増加した対象は、ベラグルセラーゼによる治療向きであると特定される。

30

【0049】

いくつかの態様では、本開示は、III型ゴーシェ病に罹患する対象を治療する方法を特徴とし、本方法は、

グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼまたはuplysos（商標））を受けたことがあり、かつ標準よりも血小板数が少ないIII型ゴーシェ病に罹患する対象、例えば、本明細書に記載の方法によって特定される対象を選択すること、および

40

ベラグルセラーゼを前記対象に投与すること、を含む。

【0050】

いくつかの実施形態では、ベラグルセラーゼは、15~60 U/kg（例えば、30 U/kg~60 U/kg、例えば、15 U/kg、30 U/kg、45 U/kg、もしくは60 U/kg）の用量で、22.5 U/kg以下の用量で、22.5~37.5 U/kg、37.5~52.5 U/kgの用量で、または52.5 U/kg以上の用量で、投与される。いくつかの実施形態では、ベラグルセラーゼは、2.5 U/kg~60 U/kgの

50

用量で投与される。いくつかの実施形態では、ベラグルセラーゼは、静脈内注入によって、隔週で投与される。他の実施形態では、ベラグルセラーゼは、静脈内注入によって、毎週投与される。いくつかの実施形態では、ベラグルセラーゼは、静脈内注入によって、例えば、 2.5 U/kg の用量で、1 週間に 3 回投与される。

【0051】

いくつかの実施形態では、用量（例えば、本明細書に記載の用量）の注入は、2 時間未満、例えば、90 分間、80 分間、70 分間、60 分間、50 分間、または 45 分間にわたって起こる。

【0052】

いくつかの実施形態では、本方法は、
凍結乾燥したベラグルセラーゼを、注射用滅菌水等の薬学的に許容される担体で再構成（例えば、200 単位のバイアルを 2.2 mL の注射用滅菌水または 400 単位のバイアルを 4.3 mL の注射用滅菌水と再構成）し、それによって、溶液を形成すること、例えば、バイアルを注射用滅菌水を添加した後に振とうしない；任意に、バイアル中の溶液を検査すること（おおよび、例えば、任意に、この溶液が変色しているかどうか、あるいは、粒子状物質が存在するかどうかを判定すること、おおよび任意に、この溶液が変色している場合、あるいは、粒子状物質が存在する場合、この溶液を使用しないことを決定すること）；

事前に選択した用量（例えば、 15 U/kg 、 30 U/kg 、 45 U/kg 、もしくは 60 U/kg 等の本明細書に記載の用量）を得るために、溶液の容量を抽出すること；
例えば、 100 mL の静脈内投与に適している 0.9% の塩化ナトリウム溶液中に容量を希釈し、それによって、希釈溶液を形成すること；任意に、この希釈溶液を軽く揺するが、希釈溶液を振とうしないこと；ならびに
静脈内注入によって、対象にこの希釈溶液を投与すること、を含む。

【0053】

いくつかの実施形態では、ベラグルセラーゼは、 2 U/kg/分 、 1.5 U/kg/分 、 1 U/kg/分 、または 0.5 U/kg/分 の速度で投与される。

【0054】

いくつかの実施形態では、投与には、在宅療法（例えば、対象の自宅、職場、または他の非臨床的（例えば、非病院）環境における）を含む。いくつかの実施形態では、投与（例えば、注入による）は、医療専門家（例えば、看護婦または医師助手）によるものである。例えば、対象が、例えば、ベラグルセラーゼの 1 回、2 回、または 3 回の投与（例えば、注入による）後に有害事象（AE）（例えば、薬物関連の重篤有害事象または注入関連の有害事象、例えば、本明細書に記載の事象）が認められなかった場合、この対象は、その後の投与に対して在宅療法を受けることができる。

【0055】

別の態様では、本開示は、対象、例えば、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ、ベラグルセラーゼ、または *uplys*（商標））を現在実施されている対象を評価するための方法を提供する。本方法は、対象のパラメータ：

ヘモグロビン濃度、血小板数、肝体積（例えば、全体重の割合として）、脾臓体積（例えば、全体重の割合として）、注入部位反応、骨格パラメータ、神経パラメータ、またはグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、 IgE 、 IgM 、 IgG 、おおよび／もしくは IgA 抗体）の存在のうちの 1 つ以上（例えば、1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、6 つ、7 つ、または 8 つ）（例えば、これらのパラメータの 1 つ以上（例えば、1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、6 つ、7 つ、または 8 つ）の平均値）を評価すること（例えば、測定すること）、あるいはこれらの評価を得ることを含む。

【0056】

骨格パラメータは、例えば、骨塩密度（BMD）（例えば、Z スコアの変化（例えば、改善）によって測定されるような）であり得る。BMD は、例えば、二重エネルギー X 線

10

20

30

40

50

吸収法（DEXA）によって評価され得る。評価され得る他の骨格パラメータには、例えば、Tスコア（例えば、正常な骨、骨減少症、および骨粗しょう症のWHO分類を決定する）、対象（例えば、小児対象）の成長、対象（例えば、小児対象）の骨格年齢、および骨髄負荷（BMB）（例えば、成人対象における）が含まれる。

【0057】

神経パラメータは、例えば、眼球運動パラメータ（例えば、異常眼球運動、異常垂直衝動、異常水平衝動、遅い水平衝動、および核上性眼筋麻痺）であり得る。眼球運動パラメータを評価する方法としては、以下に限られないが、例えば、一般的な眼科的評価、および衝動性運動評価（例えば、強膜サーチコイル技術、ビデオ技術、および赤外技術）が挙げられる。神経パラメータは、聴覚パラメータ（例えば、聴覚損失）であっても差し支えない。聴覚パラメータを評価する方法としては、以下に限られないが、一般的な聴覚評価が挙げられる。神経パラメータは、例えば、異常聴覚脳幹誘発電位、脳神経麻痺、発作、進行性点頭痙攣、震え、脳波異常、認知症、認知機能障害、運動失調、筋の協応性損失、および運動性低下であり得る。神経パラメータを評価する方法としては、以下に限られないが、例えば、EEG、聴性脳幹反応（BAER）、聴覚脳幹誘発電位の測定（例えば、電極キャップ）、体感覚性誘発電位の測定（例えば、正中神経刺激および伸縮誘発方法）、神経状態評価（例えば、神経心理学的神経状態検査）、脳神経検査、運動技能評価（例えば、運動熟練度のBruininks-Oseretskyテスト、学校機能評価(school function assessment)テスト、視覚-運動統合のBeery-Buktenica発達テスト、運動技能と姿勢技能の臨床観察(COMPS))、発作評価（例えば、神経画像（例えば、CT、MRI、拡散強調画像法）、EEG、患者病歴、身体検査）、手を使うときの巧妙さおよび眼と手の協調関係のテスト（例えば、Purdue Pegboardテスト）、標準化IQテスト（例えば、ウェクスラーIQスケール）、言語性実規模IQテスト、Rey Auditory Verbal Learning Test（商標）、注意力の測定（例えば、注意力のD2テスト）、持続的遂行能検査、トレイルメイキングテスト、Benton Visual Retention Test（登録商標）、記憶力の測定（例えば、ウェクスラー記憶検査改訂版、後で思い出される刺激の提示、California Verbal Learning Test（登録商標）、Rey Auditory Verbal Learning Test（商標）、Selective Reminding Test、Benton Visual Retention Test（登録商標）改訂版、Memory for Designs Test、Rey-O Complex Figure）、認知機能の評価（例えば、Wechsler Similarities Subtest、ウィスコンシンカード分類課題、カテゴリー検査、ストループ課題、神経学的試験バッテリー（例えば、フレキシブルバッテリー、Halstead-Reitan神経心理学バッテリー、Luria-Nebraska神経心理学バッテリー）、および精神測定試験が挙げられる。評価は、例えば、治療過程中、ほぼ毎週、ほぼ2週間毎、ほぼ3週間毎、ほぼ4週間毎、ほぼ5週間毎、ほぼ2ヶ月毎、ほぼ3ヶ月毎、ほぼ4ヶ月毎、ほぼ5ヶ月毎、ほぼ6ヶ月毎、ほぼ7ヶ月毎、ほぼ8ヶ月毎、ほぼ9ヶ月毎、ほぼ10ヶ月毎、ほぼ11ヶ月毎、またはほぼ12ヶ月毎に行うことができる。評価はまた、（例えば、ベースライン値を設定するために）治療を開始する前に行うこともできる。評価には、対象からのパラメータの値を標準（例えば、本明細書に記載の標準、例えば、陰性対照）と比較すること、および任意に、対象からのパラメータの値と標準からの値との間で、差異が存在するかどうかを判定すること、を含むことができる。標準は、例えば、III型ゴーシェ病のための異なる療法（例えば、本明細書に記載の治療）により治療されているIII型ゴーシェ病に罹患する対象において測定したパラメータの値、またはかかる対象のコホートの平均値（例えば、同じ長さの療法後）、または療法開始前（例えば、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼまたはベラグルセラーゼ）の開始前）の対象のベースライン値（もしくはIII型ゴーシェ病に罹患する対象のコホートの平均ベースライン値）であり得る。例えば、骨格パラメータ（例えば、骨塩密度）は、例えば、グルコセレブロシダー

10

20

30

40

50

ゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ、ベラグルセラーゼ、またはu p l y s o（商標））から1年、2年、3年、4年、またはそれ以上後の長期間の変化を評価することができる。

【0058】

評価は、以下のもののうちの1つ以上が存在する、つまり、ヘモグロビン濃度、血小板数、肝体積、脾臓体積、神経パラメータ、または骨格パラメータのうちの1つ以上、および標準のパラメータ（所与のパラメータに対する）の間の差異が、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、または90%超大きいかどうかを判定することを含むことができる。代替として、または加えて、評価は、注入部位反応が、（例えば、注入中、または注入してから12時間以内に）存在するかどうか、ならびに／またはグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼまたはu p l y s o（商標））に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、I g E、I g M、I g G、および／もしくはI g A抗体）が存在するかどうかを判定することを含むことができる。

【0059】

いくつかの実施形態では、評価は、ヘモグロビン濃度、血小板数、およびグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼまたはu p l y s o（商標））に対する抗体（例えば、中和抗体）が存在するかどうかを判定することのうちの1つ以上から成るものであり得る。いくつかの実施形態では、これらのパラメータのうちの1つ以上についての評価は、対象からの試料、例えば、血液または血清試料において行われる。いくつかの実施形態では、試料は、修正されている。例えば、値は、試料を、分析用試薬、および／または基質もしくは細胞、例えば、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対する抗体に結合する基質もしくは細胞と接触させることによって得られた。いくつかの実施形態では、値は、例えば、ヘモグロビン、血小板、および／または抗体のために富化されている試料、例えば、血液または血清試料の濃縮部分から得られた。いくつかの実施形態では、評価は、本明細書に記載の方法によって得られた。

【0060】

判定に基づいて、治療法の決定が、対象に対して成され得る。例えば、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法、例えば、イミグルセラーゼまたはu p l y s o（商標）等のI I I型ゴーシェ病のための治療を受けている対象が、標準（例えば、異なる療法（ベラグルセラーゼ）を受けているI I I型ゴーシェ病に罹患する対象）の値とは異なる1つ以上のパラメータの値を有する場合、決定は、グルコセレブロシダーゼ酵素補充治療（例えば、イミグルセラーゼ治療）を現在受けている対象を異なるグルコセレブロシダーゼ酵素補充治療（例えば、ベラグルセラーゼ治療）に移行することが成され得る。例えば、イミグルセラーゼに対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、I g E、I g M、I g G、および／またはI g A抗体）が、イミグルセラーゼによる治療を受けている対象において検出される場合、この対象は、ベラグルセラーゼによる治療に移行することができる。別例として、注入部位反応が、イミグルセラーゼの投与中、または投与してから12時間以内に、イミグルセラーゼによる治療を受けている対象において検出される場合、この対象は、ベラグルセラーゼによる治療に移行することができる。別例として、イミグルセラーゼによる治療を受けている対象において、平均血小板数が、治療投与の同じ用量および同じ頻度で同じ持続時間のベラグルセラーゼにより治療されたI I I型ゴーシェ病に罹患する対象のコホートについて得られた平均血小板数値より低い（例えば、5%、10%、%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、または90%より低い）場合、この対象は、ベラグルセラーゼの治療に移行することができる。

【0061】

別の態様では、本開示は、I I I型ゴーシェ病に罹患する対象に実施するための治療を選択する方法を提供し、本方法は、

10

20

30

40

50

治療が、ヘモグロビン濃度を増加させる、血小板数を増加させる、肝体積を減少させる、脾臓体積を減少させる、注入部位反応の尤度を減少させる（例えば、標準、例えば、本明細書に記載の標準、例えば、I I I型ゴーシェ病のための異なる治療（例えば、イミグルセラゼまたはu p l y s o（商標））を受けている対象のコホートの尤度と比較して）、骨格パラメータを変化させる（例えば、骨塩密度を増加させる）、神経パラメータの変化（例えば、神経パラメータにおける改善）、および／または治療に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、I g E、I g M、I g G、および／またはI g A抗体）の産生の尤度を減少させる（例えば、標準、例えば、本明細書に記載の標準、例えば、I I I型ゴーシェ病のための異なる治療（例えば、イミグルセラゼまたはu p l y s o（商標））を受けている対象のコホートの尤度と比較して）ことができるということに基づいて、治療を選択することを含む。任意に、本方法は、対象への治療を提供することを含むことができ、例えば、この提供には、治療を実施すること、または治療を対象の所有物に移行することを含む。いくつかの実施形態では、治療は、本明細書に記載の用量および／または投与スケジュールで実施することができる。

10

【0062】

本方法は、例えば、本明細書に記載の方法によって、これらのパラメータの1つ以上を評価すること（例えば、測定すること）、または評価を得ることを含むことができる。

【0063】

一態様では、本開示は、ヘモグロビン濃度の増加、血小板値の増加、肝体積の減少、脾臓体積の減少、注入部位反応の尤度の減少、骨格パラメータの変化（例えば、骨塩密度の増加）、神経パラメータの変化（例えば、神経パラメータにおける改善）、および／または治療に対する抗体の産生の尤度の減少を必要とする対象に投与するための治療を選択する方法を提供し、本方法は、

20

治療が、ヘモグロビン濃度を増加させる、血小板数を増加させる、肝体積を減少させる、脾臓体積を減少させる、注入部位反応の尤度を減少させる（例えば、標準、例えば、本明細書に記載の標準、例えば、I I I型ゴーシェ病のための異なる治療を受けている対象のコホートの尤度と比較して）、骨格パラメータを変化させる（例えば、骨塩密度を増加させる）、神経パラメータを変化させる（例えば、神経パラメータを改善する）、および／または治療に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、I g E、I g M、I g G、および／またはI g A抗体）の産生の尤度を減少させる（例えば、標準、例えば、本明細書に記載の標準、例えば、I I I型ゴーシェ病のための異なる治療を受けている対象のコホートの尤度と比較して）ことができるということに基づいて、治療を選択することを含む。任意に、本方法は、対象への治療を提供することを含むことができ、例えば、この提供には、治療を実施すること、または治療を対象の所有物に移行することを含む。いくつかの実施形態では、治療は、本明細書に記載の用量および／または投与スケジュールで実施することができる。

30

【0064】

本方法は、例えば、本明細書に記載の方法によって、これらのパラメータの1つ以上を評価すること（例えば、測定すること）、またはこれらのパラメータの1つ以上の評価を得ることを含むことができる。

40

【0065】

別の態様では、本開示は、対象、例えば、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラゼ、ベラグルセラゼ、またはu p l y s o（商標））による治療を受けるように選択されている対象を評価するための方法を提供する。本方法は、対象のパラメータ：

ヘモグロビン濃度、血小板数、肝体積（例えば、全体重の割合として）、脾臓体積（例えば、全体重の割合として）、注入部位反応、骨格パラメータ、神経パラメータ、またはグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、I g E、I g M、I g G、および／もしくはI g A抗体）の存在（例えば、これらのパラメータの1つ以上（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、または8つ）の平均

50

値)

のうちの1つ以上(例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、または8つ)を評価すること(例えば、測定すること)を含む。

【0066】

骨格パラメータは、例えば、骨塩密度(BMD)(例えば、Zスコアの変化(例えば、改善)によって測定されるような)であり得る。BMDは、例えば、二重エネルギーX線吸収法(DEXA)によって評価され得る。評価され得る他の骨格パラメータには、例えば、Tスコア(例えば、正常な骨、骨減少症、および骨粗しょう症のWHO分類を決定する)、対象(例えば、小児対象)の成長、対象(例えば、小児対象)の骨格年齢、および骨髄負荷(BMB)(例えば、成人対象における)が含まれる。

10

【0067】

神経パラメータは、例えば、眼球運動パラメータ(例えば、異常眼球運動、異常垂直衝動、異常水平衝動、遅い水平衝動、および核上性眼筋麻痺)であり得る。眼球運動パラメータを評価する方法としては、以下に限られないが、例えば、一般的な眼科的評価、および衝動性運動評価(例えば、強膜サーチコイル技術、ビデオ技術、および赤外技術)が挙げられる。神経パラメータは、聴覚パラメータ(例えば、聴覚損失)であっても差し支えない。聴覚パラメータを評価する方法としては、以下に限られないが、一般的な聴覚評価が挙げられる。神経パラメータは、例えば、異常聴覚脳幹誘発電位、脳神経麻痺、発作、進行性点頭痙攣、震え、脳波異常、認知症、認知機能障害、運動失調、筋の協応性損失、および運動性低下であり得る。神経パラメータを評価する方法としては、以下に限られないが、例えば、EEG、聴性脳幹反応(BAER)、聴覚脳幹誘発電位の測定(例えば、電極キャップ)、体感覚性誘発電位の測定(例えば、正中神経刺激および伸縮誘発方法)、神経状態評価(例えば、神経心理学的神経状態検査)、脳神経検査、運動技能評価(例えば、運動熟練度のBruininks-Oseretskyテスト、学校機能評価(school function assessment)テスト、視覚-運動統合のBeery-Buktenica発達テスト、運動技能と姿勢技能の臨床観察(COMPS))、発作評価(例えば、神経画像(例えば、CT、MRI、拡散強調画像法)、EEG、患者病歴、身体検査)、手を使うときの巧妙さおよび眼と手の協調関係のテスト(例えば、Purdue Pegboardテスト)、標準化IQテスト(例えば、ウェクスラーIQスケール)、言語性実規模IQテスト、Rey Auditory Verbal Learning Test(商標)、注意力の測定(例えば、注意力のD2テスト)、持続的遂行能検査、トレイルメイキングテスト、Benton Visual Retention Test(登録商標)、記憶力の測定(例えば、ウェクスラー記憶検査改訂版、後で思い出される刺激の提示、California Verbal Learning Test(登録商標)、Rey Auditory Verbal Learning Test(商標)、Selective Reminding Test、Benton Visual Retention Test(登録商標)改訂版、Memory for Designs Test、Rey-O Complex Figure)、認知機能の評価(例えば、Wechsler Similarities Subtest、ウィスコンシンカード分類課題、カテゴリー検査、ストループ課題、神経学的試験バッテリー(例えば、フレキシブルバッテリー、Halstead-Reitan神経心理学バッテリー、Luria-Nebraska神経心理学バッテリー)、および精神測定試験が挙げられる。評価には、対象からのパラメータの値を標準(例えば、本明細書に記載の標準、例えば、陰性対照)と比較すること、および任意に、対象からのパラメータの値と標準からの値との間で、差異が存在するかどうかを判定することと、を含むことができる。標準は、例えば、III型ゴーシェ病のための異なる療法(例えば、本明細書に記載の治療)で治療されるIII型ゴーシェ病に罹患する対象において測定したパラメータの値、またはかかる対象のコホートの平均値(例えば、同じ長さの療法後)、または療法開始前の対象のベースライン値(もしくはIII型ゴーシェ病に罹患する対象のコホートの平均ベースライン値)であり得る。

20

30

40

50

【0068】

評価は、

ヘモグロビン濃度、血小板数、肝体積、脾臓体積、神経パラメータ、または骨格パラメータ（例えば、骨塩密度（BMD）として測定された）の1つ以上、および標準のパラメータ（所与のパラメータに対する）の差異が、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、または90%超大きいかどうかを判定することを含むことができる。

【0069】

いくつかの実施形態では、評価は、ヘモグロビン濃度、血小板数、およびグルコセブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼまたはu p l y s o（商標））に対する抗体（例えば、中和抗体）が存在するかどうかを判定することのうちの1つ以上から成るものであり得る。いくつかの実施形態では、これらのパラメータの1つ以上についての評価は、対象からの試料、例えば、血液または血清試料において行われる。いくつかの実施形態では、試料は、修正されている。例えば、値は、この試料を、分析用試薬、および／または基質もしくは細胞、例えば、グルコセブロシダーゼ酵素補充療法に対する抗体に結合する基質もしくは細胞と接触させることによって得られた。いくつかの実施形態では、値は、例えば、ヘモグロビン、血小板、および／または抗体のために富化されている試料、例えば、血液または血清試料の濃縮部分から得られた。いくつかの実施形態では、評価は、本明細書に記載の方法によって得られた。

【0070】

別の態様では、本開示は、グルコセブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ、ベラグルセラーゼ、またはu p l y s o（商標））を処方する方法を提供し、本方法は、

グルコセブロシダーゼ酵素補充療法の識別情報、例えば、グルコセブロシダーゼ酵素補充療法の化学構造、化学名、商標名、もしくは一般名を受けることと、

グルコセブロシダーゼ酵素補充療法が、ヘモグロビン濃度を増加させる、血小板数を増加させる、肝体積を減少させる、脾臓体積を減少させる、注入部位反応の尤度を減少させる（例えば、標準、例えば、本明細書に記載の標準、例えば、I I I型ゴーシェ病のための異なる治療（例えば、イミグルセラーゼまたはu p l y s o（商標））を受けている対象のコホートの尤度と比較して）、骨格パラメータを変化させる（例えば、骨塩密度を増加させる）、神経パラメータを変化させる（例えば、神経パラメータを改善する）、および／または治療に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、I g E、I g M、I g G、および／またはI g A抗体）の産生の尤度を減少させる（例えば、標準、例えば、本明細書に記載の標準、例えば、I I I型ゴーシェ病のための異なる治療（例えば、イミグルセラーゼまたはu p l y s o（商標））を受けている対象のコホートの尤度と比較して）ことができる、特性のうちの1つ以上を有するという情報を受けることと、

例えば、対象が、ヘモグロビン濃度の増加、血小板数の増加、肝体積の減少、脾臓体積の減少、注入部位反応の尤度の減少（例えば、標準、例えば、本明細書に記載の標準、例えば、I I I型ゴーシェ病のための異なる治療（例えば、イミグルセラーゼまたはu p l y s o（商標））を受けている対象のコホートの尤度と比較して）、骨格パラメータの変化（例えば、骨塩密度の増加）、神経パラメータの変化（例えば、神経パラメータの改善）、および／または治療に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、I g E、I g M、I g G、および／またはI g A抗体）の産生の尤度の減少（例えば、標準、例えば、本明細書に記載の標準、例えば、I I I型ゴーシェ病のための異なる治療（例えば、イミグルセラーゼまたはu p l y s o（商標））を受けている対象のコホートの尤度と比較して）のうちの1つ以上を必要とするということに基づいて、グルコセブロシダーゼ酵素補充療法を必要とする対象を選択することと、

グルコセブロシダーゼ酵素補充療法を、対象に処方する、調剤する、または投与することと、を含む。

【0071】

いくつかの実施形態では、対象は、ヘモグロビン濃度の増加、血小板数の増加、およびグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼまたはuplysos（商標））に対する抗体（例えば、中和抗体）の産生の尤度の減少、または神経パラメータの変化（例えば、神経パラメータにおける改善）のうちの1つ以上を必要とする。いくつかの実施形態では、対象がこれらの変化の1つ以上を必要とするものの決定は、対象からの試料、例えば、血液または血清試料において行われるこれらのパラメータのうちの1つ以上の評価に基づく。いくつかの実施形態では、この試料は、修正されている。例えば、値は、試料を、分析用試薬、および／または基質もしくは細胞、例えば、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対する抗体に結合する基質もしくは細胞と接触させることによって得られた。いくつかの実施形態では、値は、例えば、ヘモグロビン、血小板、および／または抗体のために富化されている試料、例えば、血液試料の濃縮部分から得られた。いくつかの実施形態では、評価は、本明細書に記載の方法によって得られた。

10

【0072】

別の態様では、本開示は、受容者に、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼまたはベラグルセラーゼ）の使用についての情報、またはそれについてのガイドラインを提供する方法を提供し、本方法は、

この受容者に、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法の識別情報、例えば、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法の化学構造、化学名、商標名、もしくは一般名を伝達することと、

20

グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法が、ヘモグロビン濃度を増加させる、血小板数を増加させる、肝体積を減少させる、脾臓体積を減少させる、注入部位反応の尤度を減少させる（例えば、標準、例えば、本明細書に記載の標準、例えば、III型ゴーシェ病のための異なる治療（例えば、イミグルセラーゼまたはuplysos（商標））を受けている対象のコホートの尤度と比較して）、骨格パラメータを変化させる（例えば、骨塩密度を増加させる）、神経パラメータを変化させる（例えば、神経パラメータを改善する）、および／または治療に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、IgE、IgM、IgG、および／またはIgA抗体）の産生の尤度を減少させる（例えば、標準、例えば、本明細書に記載の標準、例えば、III型ゴーシェ病のための異なる治療（例えば、イミグルセラーゼまたはuplysos（商標））を受けている対象のコホートの尤度と比較して）ことができる、特性のうちの1つ以上を有するという情報を、受容者に伝達することと、

30

グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法を購入するための受容者からの依頼を受けることと、

受容者に、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法を販売、発送、または移行することと、を含む。

【0073】

別の態様では、本開示は、受容者に、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ、ベラグルセラーゼ、またはuplysos（商標））についての情報、またはグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼまたはベラグルセラーゼ）の使用のためのガイドラインを提供する方法を提供し、本方法は、

40

グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法の識別情報、例えば、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法の化学構造、化学名、商標名、もしくは一般名を提供することと、

グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法が、ヘモグロビン濃度を増加させる、血小板数を増加させる、肝体積を減少させる、脾臓体積を減少させる、注入部位反応の尤度を減少させる（例えば、標準、例えば、本明細書に記載の標準、例えば、III型ゴーシェ病のための異なる治療（例えば、イミグルセラーゼ）を受けている対象のコホートの尤度と比較して）、骨格パラメータを変化させる（例えば、骨塩密度を増加させる）、神経パラメータを変化させる（例えば、神経パラメータを改善する）、および／または治療に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、IgE、IgM、IgG、および／またはIgA抗体）の産生の尤度を減少させる（例えば、標準、例えば、本明細書に記載の標準、例えば、

50

ⅡⅡⅡ型ゴーシェ病のための異なる治療（例えば、イミグルセラゼ）を受けている対象のコホートの尤度と比較して）ことができる、特性のうちの1つ以上を有するという情報を提供することと、

例えば、データベース中に、識別情報および情報を記憶させることと、

記憶（例えば、記憶させた識別情報および情報）を受容者に移行させることと、を含む

。

【0074】

別の態様では、本開示は、受容者に、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラゼ、ベラグルセラゼ、またはuplys（商標））についての情報、またはグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラゼ、ベラグルセラ

10

ゼ、またはuplys（商標））の使用のためのガイドラインを提供する方法を提供し、本方法は、

グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法の識別情報、例えば、グルコセレブロシダーゼ酵

素補充療法の化学構造、化学名、商標名、もしくは一般名を提供することと、

グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法が、ヘモグロビン濃度を増加させる、血小板数を増加させる、肝体積を減少させる、脾臓体積を減少させる、注入部位反応の尤度を減少させる（例えば、標準、例えば、本明細書に記載の標準、例えば、ⅡⅡⅡ型ゴーシェ病のための異なる治療（例えば、イミグルセラゼまたはuplys（商標））を受けている対象のコホートの尤度と比較して）、骨格パラメータを変化させる（例えば、骨塩密度を増加させる）、神経パラメータを変化させる（例えば、神経パラメータを改善する）、およ

20

び／または治療に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、IgE、IgM、IgG、および／またはIgA抗体）の産生の尤度を減少させる（例えば、標準、例えば、本明細書に記載の標準、例えば、ⅡⅡⅡ型ゴーシェ病のための異なる治療（例えば、イミグルセラゼまたはuplys（商標））を受けている対象のコホートの尤度と比較して）ことができる、特性のうちの1つ以上を有するという情報を提供することと、

識別情報を、例えば、データベース中で、または物理的関連付けにより情報と関連させることと、

関連させた識別情報および情報を受容者に移行することと、を含む。

【0075】

別の態様では、本開示は、

30

グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラゼ、ベラグルセラゼ、またはuplys（商標））の識別情報、例えば、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法の化学構造、化学名、商標名、もしくは一般名；

グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法が、ヘモグロビン濃度を増加させる、血小板数を増加させる、肝体積を減少させる、脾臓体積を減少させる、注入部位反応の尤度を減少させる（例えば、標準、例えば、本明細書に記載の標準、例えば、ⅡⅡⅡ型ゴーシェ病のための異なる治療（例えば、イミグルセラゼ）を受けている対象のコホートの尤度と比較して）、骨格パラメータを変化させる（例えば、骨塩密度を増加させる）、神経パラメータを変化させる（例えば、神経パラメータを改善する）、および／または治療に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、IgE、IgM、IgG、および／またはIgA抗体）の産生の尤度を減少させる（例えば、標準、例えば、本明細書に記載の標準、例えば、ⅡⅡⅡ型ゴーシェ病のための異なる治療（例えば、イミグルセラゼ）を受けている対象のコホートの尤度と比較して）ことができる、特性のうちの1つ以上を有するという情報；ならびに

40

識別情報を、例えば、データベース中で、もしくは物理的関連付けによる、情報と関連させる関連機能を、含有する、または含有するようにプログラム化したデータベース、媒体、またはコンピュータを提供する。

【0076】

別の態様では、本開示は、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラゼ、ベラグルセラゼ、またはuplys（商標））を対象が利用できるようにす

50

る方法を提供し、本方法は、

対象に、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法の識別情報、例えば、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法の化学構造、化学名、商標名、もしくは一般名を提供することと、

グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法が、ヘモグロビン濃度を増加させる、血小板数を増加させる、肝体積を減少させる、脾臓体積を減少させる、注入部位反応の尤度を減少させる（例えば、標準、例えば、本明細書に記載の標準、例えば、I I I型ゴーシェ病のための異なる治療（例えば、イミグルセラゼまたはu p l y s o（商標））を受けている対象のコホートの尤度と比較して）、骨格パラメータを変化させる（例えば、骨塩密度を増加させる）、神経パラメータを変化させる（例えば、神経パラメータを改善する）、および／または治療に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、I g E、I g M、I g G、および／もしくはI g A抗体）の産生の尤度を減少させる（例えば、標準、例えば、本明細書に記載の標準、例えば、I I I型ゴーシェ病のための異なる治療（例えば、イミグルセラゼまたはu p l y s o（商標））を受けている対象のコホートの尤度と比較して）ことができる、特性のうちの1つ以上を有するという情報を、対象に提供することと、

対象に投与する、提供する、または対象が購入することができるグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法の用量を、商取引に取り入れることと、を含む。

【0077】

別の態様では、本開示は、対象がグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラゼ、ベラグルセラゼ、またはu p l y s o（商標））を依頼するようにする方法を提供し、本方法は、

対象に、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法の識別情報、例えば、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法の化学構造、化学名、商標名、もしくは一般名を提供することと、

グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法が、ヘモグロビン濃度を増加させる、血小板数を増加させる、肝体積を減少させる、脾臓体積を減少させる、注入部位反応の尤度を減少させる（例えば、標準、例えば、本明細書に記載の標準、例えば、I I I型ゴーシェ病のための異なる治療（例えば、イミグルセラゼまたはu p l y s o（商標））を受けている対象のコホートの尤度と比較して）、骨格パラメータを変化させる（例えば、骨塩密度を増加させる）、神経パラメータを変化させる（例えば、神経パラメータを改善する）、および／または治療に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、I g E、I g M、I g G、および／もしくはI g A抗体）の産生の尤度を減少させる（例えば、標準、例えば、本明細書に記載の標準、例えば、I I I型ゴーシェ病のための異なる治療（例えば、イミグルセラゼまたはu p l y s o（商標））を受けている対象のコホートの尤度と比較して）ことができる、もののうちの1つ以上を有するという情報を、対象に提供することと、

対象に投与する、提供する、または対象が購入することができるグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法の用量を、商取引に取り入れることと、を含む。

【0078】

別の態様では、本開示は、I I I型ゴーシェ病に罹患する対象のためのグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラゼ、ベラグルセラゼ、またはu p l y s o（商標））による一連の治療に対する支払い分類を選択する方法を特徴とする。本方法は、対象が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対して注入部位反応を経験する、あるいはグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、I g E、I g M、I g G、および／もしくはI g A抗体）を産生するかどうかの一評価を提供すること（例えば、受けること）；ならびに（1）対象が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対して注入部位反応を経験する、あるいはグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、I g E、I g M、I g G、および／もしくはI g A抗体）を産生する場合、第1の支払い分類を選択すること、および（2）対象が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対して注入部位反応を経験しない、あるいはグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、I g E、I g M、I g G、および／もしくはI g A抗体）を産生しない場合、第2の支払い分類を選択することのうちの少なくとも1つを行うことと、を含む。

【0079】

いくつかの実施形態では、対象の割当は、第1の分類へのものであり、この割当は、一連の治療（例えば、ベラグルセラーゼ）のための支払いを承認する。

【0080】

いくつかの実施形態では、対象の割当は、第2の分類へのものであり、この割当は、一連の治療（例えば、イミグルセラーゼ、ベラグルセラーゼ、またはu p l y s o（商標））のための支払いを承認する。

【0081】

いくつかの実施形態では、評価は、対象が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、I g E、I g M、I g G、および／またはI g A抗体）を産生するかどうかであり、この評価は、本明細書に記載の方法によって得られた。

10

【0082】

別の態様では、本開示は、I I I型ゴーシェ病に罹患する対象のためのグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ、ベラグルセラーゼ、またはu p l y s o（商標））による一連の治療の支払い分類を選択する方法を特徴とする。本方法は、対象の神経パラメータが変化する（例えば、神経パラメータが改善する）かどうか、および／または対象の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば9ヶ月間、例えば60 U / k gの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から9ヶ月または12ヶ月後、80%、75%、70%、65%、60%、もしくは55%未満増加するかどうか、または対象の神経パラメータが変化する（例えば、神経パラメータが改善する）かどうか、および／または対象の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば6ヶ月間、例えば60 U / k gの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から6ヶ月後、40%、35%、30%、もしくは25%未満増加するかどうかの一評価を提供すること（例えば、受けること）；ならびに、（1）対象の神経パラメータが変化する（例えば、神経パラメータが改善する）場合、および／または対象の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば9ヶ月間、例えば60 U / k gの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から9ヶ月または12ヶ月後、80%、75%、70%、65%、60%、もしくは55%未満増加する場合、または対象の神経パラメータが変化する（例えば、神経パラメータが改善する）場合、および／または対象の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば6ヶ月間、例えば60 U / k gの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から6ヶ月後、40%、35%、30%、もしくは25%未満増加する場合、第1の支払い分類を選択すること、および（2）対象の神経パラメータが変化する（例えば、神経パラメータが改善する）場合、および／または対象の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば9ヶ月間、例えば60 U / k gの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から9ヶ月または12ヶ月後、80%、75%、70%、65%、60%、もしくは55%増加する場合、または対象の神経パラメータが変化する（例えば、神経パラメータが改善する）場合、および／または対象の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば6ヶ月間、例えば60 U / k gの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から6ヶ月後、40%、35%、30%、もしくは25%増加する場合、第2の支払い分類を選択することのうちの少なくとも1つを行うことと、を含む。

20

30

40

【0083】

50

いくつかの実施形態では、対象の割当は、第1の分類のものであり、この割当は、一連の治療（例えば、ベラグルセラーゼ）のための支払いを承認する。

【0084】

いくつかの実施形態では、対象の割当は、第2の分類のものであり、この割当は、一連の治療（例えば、イミグルセラーゼ、ベラグルセラーゼ、またはupl y s o（商標））のための支払いを承認する。

【0085】

いくつかの実施形態では、評価は、本明細書に記載の方法によって得られたものである。

【0086】

一態様では、本開示は、III型ゴーシェ病に罹患する対象について決定を行う情報を提供する、またはかかる決定を行う方法の特徴とする。本方法は、対象の一評価を提供すること（例えば、受けることによって）であって、この評価は、本明細書に記載の方法によって、例えば、任意に、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ、ベラグルセラーゼ、またはupl y s o（商標））を、対象に投与することによって成され；対象が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対して注入部位反応を経験する、あるいはグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、IgE、IgM、IgG、および／またはIgA抗体）を産生するかどうかについての投与後の判定を提供し、それによって、投与後の判定を提供することと；標準（例えば、本明細書に記載の標準）と投与後の判定の比較を提供し、それによって、対象について決定を行う情報を提供すること、またはかかる決定を行うことと、を含む。

【0087】

いくつかの実施形態では、本方法は、決定を行うことを含む。

【0088】

いくつかの実施形態では、本方法はまた、（例えば、コンピュータ、コンパクトディスク、電話、ファクシミリ、電子メール、または手紙によって）別の当事者へ情報を伝達することも含む。

【0089】

いくつかの実施形態では、決定は、対象が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対して注入部位反応を経験する、あるいはグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、IgE、IgM、IgG、および／もしくはIgA抗体）を産生する場合、第1の一連の処置（例えば、ベラグルセラーゼによる治療）のための、ならびに、対象が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対して注入部位反応を経験しない、あるいはグルコセレブロシダーゼ酵素補充に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、IgE、IgM、IgG、および／もしくはIgA抗体）を産生しない場合、第2の一連の処置（例えば、イミグルセラーゼ、ベラグルセラーゼ、またはupl y s o（商標）による治療）のための、支払いの対象を選択すること、または支払いを行う、もしくは承認することを含む。

【0090】

いくつかの実施形態では、対象は、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対して注入部位反応を体験するか、または、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、IgE、IgM、IgG、および／もしくはIgA抗体）を産生し、一連の処置は、一連の療法（例えば、ベラグルセラーゼによる治療）の承認である。

【0091】

いくつかの実施形態では、対象は、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対して注入部位反応を体験するか、または、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、IgE、IgM、IgG、および／もしくはIgA抗体）を産生し、一連の処置は、この対象を第1の分類に割り当てる。いくつかの実施形態では、第1の分類への割当は、対象に提供した治療（例えば、ベラグルセラーゼ）の支払いを可

10

20

30

40

50

能にする。いくつかの実施形態では、支払いは、第一者による第二者へのものである。いくつかの実施形態では、第一者は、対象以外である。いくつかの実施形態では、第一者は、第三者支払人、保険会社、雇用者、雇用者が提供する健康保険、健康維持機構（HMO）、または政府事業体から選択される。いくつかの実施形態では、第二者は、対象、ヘルスケア提供者、治療を行う医師、HMO、病院、政府事業体、または治療を販売もしくは供給する事業体から選択される。いくつかの実施形態では、第一者は、保険会社であり、第二者は、対象、ヘルスケア提供者、治療を行う医師、HMO、病院、政府事業体、または治療を販売もしくは供給する事業体から選択される。いくつかの実施形態では、第一者は、政府事業体であり、第二者は、対象、ヘルスケア提供者、治療を行う医師、HMO、病院、保険会社、または治療を販売もしくは供給する事業体から選択される。

10

【0092】

いくつかの実施形態では、対象は、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対して注入部位反応を体験しないか、あるいは、グルコセレブロシダーゼ酵素補充に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、IgE、IgM、IgG、および／もしくはIgA抗体）を産生せず、一連の処置は、一連の療法（例えば、イミグルセラゼ、ベラグルセラゼ、またはuplyso（商標））の承認である。

【0093】

いくつかの実施形態では、対象は、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対して注入部位反応を体験しないか、あるいは、グルコセレブロシダーゼ酵素補充に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、IgE、IgM、IgG、および／もしくはIgA抗体）を産生せず、一連の処置は、この対象を第2の分類に割り当てる。いくつかの実施形態では、第2の分類への割当は、対象に提供した治療（例えば、イミグルセラゼ、ベラグルセラゼ、またはuplyso（商標））の支払いを可能にする。いくつかの実施形態では、支払いは、第一者による第二者へのものである。いくつかの実施形態では、第一者は、対象以外である。いくつかの実施形態では、第一者は、第三者支払人、保険会社、雇用者、雇用者が提供する健康保険、HMO、または政府事業体から選択される。いくつかの実施形態では、第二者は、対象、ヘルスケア提供者、治療を行う医師、HMO、病院、政府事業体、または治療を販売もしくは供給する事業体から選択される。いくつかの実施形態では、第一者は、保険会社であり、第二者は、対象、ヘルスケア提供者、治療を行う医師、HMO、病院、政府事業体、または治療を販売もしくは供給する事業体から選択される。いくつかの実施形態では、第一者は、政府事業体であり、第二者は、対象、ヘルスケア提供者、治療を行う医師、HMO、病院、保険会社、または治療を販売もしくは供給する事業体から選択される。

20

30

【0094】

一態様では、本開示は、III型ゴーシェ病に罹患する対象について決定を行う情報を提供する、またはかかる決定を行う方法の特徴とする。本方法は、対象の一評価を提供すること（例えば、受けることによって）であって、この評価は、本明細書に記載の方法によって、例えば、任意に、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラゼ、ベラグルセラゼ、またはuplyso（商標））を、対象に投与することによって成され；対象の神経パラメータが変化する（例えば、神経パラメータが改善する）かどうか、および／または対象の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラゼ治療、例えば9ヶ月間、例えば60U/kgの用量で、イミグルセラゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から9ヶ月または12ヶ月後、80%、75%、70%、65%、60%、もしくは55%未満増加するかどうか、または対象の神経パラメータが変化する（例えば、神経パラメータが改善する）かどうか、および／または対象の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラゼ治療、例えば6ヶ月間、例えば60U/kgの用量で、イミグルセラゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から6ヶ月後、40%、35%、30%、もしくは25%未満増加するかどうかの投与後の判定を提供し、それによって、対象につい

40

50

ての決定を行うための情報を提供すること、またはかかる決定を行うことと、を含む。

【0095】

いくつかの実施形態では、本方法は、決定を行うことを含む。

【0096】

いくつかの実施形態では、本方法はまた、別の関係者へ情報を伝達すること（例えば、コンピュータ、コンパクトディスク、電話、ファクシミリ、電子メール、または手紙によって）も含む。

【0097】

いくつかの実施形態では、決定は、対象の神経パラメータが変化する（例えば、神経パラメータが改善する）場合、および／または対象の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば9ヶ月間、例えば60 U/kgの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から9ヶ月または12ヶ月後、80%、75%、70%、65%、60%、もしくは55%未満増加する場合、または対象の神経パラメータが変化する（例えば、神経パラメータが改善する）場合、および／または対象の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば6ヶ月間、例えば60 U/kgの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から6ヶ月後、40%、35%、30%、もしくは25%未満増加する場合、第1の一連の処置（例えば、ベラグルセラーゼによる治療）のための、ならびに、対象の神経パラメータが変化する（例えば、神経パラメータが改善する）場合、および／または対象の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば9ヶ月間、例えば60 U/kgの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から9ヶ月または12ヶ月後、80%、75%、70%、65%、60%、もしくは55%増加する場合、または対象の神経パラメータが変化する（例えば、神経パラメータが改善する）場合、および／または対象の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば6ヶ月間、例えば60 U/kgの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から6ヶ月後、40%、35%、30%、もしくは25%増加する場合、第2の一連の処置（例えば、イミグルセラーゼ、ベラグルセラーゼ、またはuplysio（商標）による治療）のための、支払いの対象を選択すること、または支払いを行う、もしくは承認することを含む。

【0098】

いくつかの実施形態では、対象の神経パラメータが変化する（例えば、神経パラメータが改善する）か、および／または対象の平均血小板数は、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば9ヶ月間、例えば60 U/kgの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から9ヶ月または12ヶ月後、80%、75%、70%、65%、60%、もしくは55%未満増加するか、または対象の神経パラメータが変化する（例えば、神経パラメータが改善する）か、および／または対象の平均血小板数は、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば6ヶ月間、例えば60 U/kgの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から6ヶ月後、40%、35%、30%、もしくは25%未満増加し、一連の処置は、一連の療法（例えば、ベラグルセラーゼによる治療）の承認である。

【0099】

いくつかの実施形態では、対象の割当は、第1の分類のものであり、この割当は、一連の治療（例えば、ベラグルセラーゼ）のための支払いを承認する。

【0100】

いくつかの実施形態では、対象の割当は、第2の分類のものであり、この割当は、一連

10

20

30

40

50

の治療（例えば、イミグルセラーゼ、ベラグルセラーゼ、またはu p l y s o（商標））のための支払いを承認する。

【0101】

いくつかの実施形態では、対象の神経パラメータが変化する（例えば、神経パラメータが改善する）か、および／または対象の平均血小板数は、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば9ヶ月間、例えば60 U／k gの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から9ヶ月または12ヶ月後、80％、75％、70％、65％、60％、もしくは55％未満増加するか、または対象の神経パラメータが変化する（例えば、神経パラメータが改善する）か、および／または対象の平均血小板数は、グルコセレ
10
ブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば6ヶ月間、例えば60 U／k gの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から6ヶ月後、40％、35％、30％、もしくは25％未満増加し、一連の処置は、この対象を第1の分類に割り当てる。いくつかの実施形態では、第1の分類への割当は、対象に提供した治療（例えば、ベラグルセラーゼ）の支払いを可能にする。いくつかの実施形態では、支払いは、第一者による第二者へのものである。いくつかの実施形態では、第一者は、対象以外である。いくつかの実施形態では、第一者は、第三者支払人、保険会社、雇用者、雇用者が提供する健康保険、HMO、または政府事業体から選択される。いくつかの実施形態では、第二者は、対象、ヘルス
20
ケア提供者、治療を行う医師、HMO、病院、政府事業体、または治療を販売もしくは供給する事業体から選択される。いくつかの実施形態では、第一者は、保険会社であり、第二者は、対象、ヘルスケア提供者、治療を行う医師、HMO、病院、政府事業体、または治療を販売もしくは供給する事業体から選択される。いくつかの実施形態では、第一者は、政府事業体であり、第二者は、対象、ヘルスケア提供者、治療を行う医師、HMO、病院、保険会社、または治療を販売もしくは供給する事業体から選択される。

【0102】

いくつかの実施形態では、対象の神経パラメータが変化する（例えば、神経パラメータが改善する）か、および／または対象の平均血小板数は、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば9ヶ月間、例えば60 U／k gの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血
30
小板数と比較して、治療から9ヶ月または12ヶ月後、80％、75％、70％、65％、60％、もしくは55％増加するか、または対象の神経パラメータが変化する（例えば、神経パラメータが改善する）場合、および／または対象の平均血小板数は、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば6ヶ月間、例えば60 U／k gの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から6ヶ月後、40％、35％、30％、もしくは25％増加する場合、一連の処置は、一連の療法（例えば、イミグルセラーゼ、ベラグルセラーゼ、またはu p l y s o（商標））の承認である。

【0103】

いくつかの実施形態では、対象の神経パラメータが変化する（例えば、神経パラメータが改善する）か、および／または対象の平均血小板数は、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば9ヶ月間、例えば60 U／k gの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血
40
小板数と比較して、治療から9または12ヶ月後、80％、75％、70％、65％、60％、もしくは55％増加するか、または対象の神経パラメータが変化する（例えば、神経パラメータが改善する）場合、および／または対象の平均血小板数は、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば6ヶ月間、例えば60 U／k gの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から6ヶ月後、40％、35％、30％、もしくは25％増加する場合、一連の処置は、この対象を第2の分類に割り当てる。いくつかの実施
50

形態では、第2の分類への割当は、対象に提供した治療（例えば、イミグルセラゼ、ベラグルセラゼ、またはuplyso（商標））の支払いを可能にする。いくつかの実施形態では、支払いは、第一者による第二者へのものである。いくつかの実施形態では、第一者は、対象以外である。いくつかの実施形態では、第一者は、第三者支払人、保険会社、雇用者、雇用者が提供する健康保険、HMO、または政府事業体から選択される。いくつかの実施形態では、第二者は、対象、ヘルスケア提供者、治療を行う医師、HMO、病院、政府事業体、または治療を販売もしくは供給する事業体から選択される。いくつかの実施形態では、第一者は、保険会社であり、第二者は、対象、ヘルスケア提供者、治療を行う医師、HMO、病院、政府事業体、または治療を販売もしくは供給する事業体から選択される。いくつかの実施形態では、第一者は、政府事業体であり、第二者は、対象、ヘルスケア提供者、治療を行う医師、HMO、病院、保険会社、または治療を販売もしくは供給する事業体から選択される。

10

【0104】

別の態様では、本開示は、III型ゴーシェ病に罹患する対象のためのグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、ベラグルセラゼ）による一連の治療の支払い分類を選択する方法を特徴とする。本方法は、療法の注入中、または注入してから12時間以内の注入部位反応が、対象に存在すること、または療法に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、IgE、IgM、IgG、および／もしくはIgA抗体）が、対象に存在することを、例えば、本明細書に記載の方法によって判定すること、ならびに、選択された一連の治療、例えば、ベラグルセラゼの支払いを許可する、行う、承認する、受け取る、送信する、または可能にすること、を含む。

20

【0105】

別の態様では、本開示は、III型ゴーシェ病に罹患する対象のためのグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラゼ、ベラグルセラゼ、またはuplyso（商標））による一連の治療の支払い分類を選択する方法を特徴とする。本方法は、療法の注入中、または注入してから12時間以内の注入部位反応が、対象に存在しないこと、または療法に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、IgE、IgM、IgG、および／もしくはIgA抗体）が、対象に存在しないことを、例えば、本明細書に記載の方法によって判定すること、ならびに、選択された一連の治療、例えば、イミグルセラゼ、ベラグルセラゼ、もしくはuplyso（商標）の支払いを許可する、行う、承認する、受け取る、送信する、または可能にすること、を含む。

30

【0106】

一態様では、本開示は、データ記録を作成する方法を特徴とする。本方法は、本明細書に記載の方法の結果を、記録、例えばコンピュータ可読の記録に入力することを含む。いくつかの実施形態では、記録は、ワールドワイドウェブ上で利用可能である。いくつかの実施形態では、記録は、第三者支払人、保険会社、雇用者、雇用者が提供する健康保険、HMO、または政府事業体、またはヘルスケア提供者、治療を行う医師、HMO、病院、政府事業体、または治療を販売もしくは供給する事業体により評価されるか、または本明細書に記載の方法が依存する。

【0107】

別の態様では、本開示は、データ記録（例えば、コンピュータ可読の記録）を特徴とし、この記録には、本明細書に記載の方法からの結果が含まれる。いくつかの実施形態では、記録は、ワールドワイドウェブ上で利用可能である。いくつかの実施形態では、記録は、第三者支払人、保険会社、雇用者、雇用者が提供する健康保険、HMO、または政府事業体、またはヘルスケア提供者、治療を行う医師、HMO、病院、政府事業体、または治療を販売もしくは供給する事業体により評価されるか、および／または送信される。

40

【0108】

一態様では、本開示は、データを提供する方法を特徴とする。本方法は、例えば、本明細書に記載の方法によって生成された、本明細書に記載のデータを提供することを含み、記録、例えば、支払いが得られたかどうかを判定するための本明細書に記載の記録を提供

50

する。いくつかの実施形態では、データは、コンピュータ、コンパクトディスク、電話、ファクシミリ、電子メール、または手紙によって提供される。いくつかの実施形態では、データは、第一者によって第二者に提供される。いくつかの実施形態では、第一者は、対象、ヘルスケア提供者、治療を行う医師、HMO、病院、政府事業体、または治療を販売もしくは供給する事業体から選択される。いくつかの実施形態では、第二者は、第三者支払人、保険会社、雇用者、雇用者が提供する健康保険、HMO、または政府事業体である。いくつかの実施形態では、第一者は、対象、ヘルスケア提供者、治療を行う医師、HMO、病院、保険会社、または治療を販売もしくは供給する事業体から選択され、第二者は、政府事業体である。いくつかの実施形態では、第一者は、対象、ヘルスケア提供者、治療を行う医師、HMO、病院、保険会社、または治療を販売もしくは供給する事業体から選択され、第二者は、保険会社である。

10

【0109】

一態様では、本開示は、本明細書に記載の記録を送信する方法を特徴とする。本方法は、第一者が、例えば、コンピュータ、コンパクトディスク、電話、ファクシミリ、電子メール、または手紙によって、記録を第二者に送信することを含む。いくつかの実施形態では、第二者は、対象、ヘルスケア提供者、治療を行う医師、HMO、病院、政府事業体、または治療を販売もしくは供給する事業体から選択される。いくつかの実施形態では、第一者は、保険会社または政府事業体であり、第二者は、対象、ヘルスケア提供者、治療を行う医師、HMO、病院、政府事業体、または治療を販売もしくは供給する事業体から選択される。いくつかの実施形態では、第一者は、政府事業体または保険会社であり、第二者は、対象、ヘルスケア提供者、治療を行う医師、HMO、病院、保険会社、または治療を販売もしくは供給する事業体から選択される。

20

【0110】

一方法では、例えば、III型ゴーシェ病に罹患する対象が、神経パラメータの変化を経験するかどうかについて、III型ゴーシェ病に罹患する対象が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対して注入部位反応を経験する、またはグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、IgE、IgM、IgG、および／もしくはIgA抗体）を産生するかどうかについての情報（例えば、ここで、この情報は、本明細書に記載されるように得られる）が、第三者、例えば、病院、診療所、政府事業体、補償団体、もしくは保険会社（例えば、生命保険会社）に、提供される（例えば、伝達される、例えば、電子的に伝達される）。例えば、医療処置、医療処置の支払い、補償団体による支払い、またはサービスもしくは保険の費用の選択が、情報と関連し得る。例えば、第三者は、情報を受け取り、少なくとも部分的に情報に基づいて決定を行い、任意に、情報を伝達するか、または情報に基づいて、処置、支払い、支払いのレベル、補償範囲等の選択を行う。

30

【0111】

一方法では、例えば、III型ゴーシェ病に罹患する対象が、神経パラメータの変化を経験するかどうか、および／またはIII型ゴーシェ病に罹患する対象の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば9ヶ月間、例えば60U/kgの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から9ヶ月または12ヶ月後、80%、75%、70%、65%、60%、もしくは55%未満増加するかどうか、または対象の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば6ヶ月間、例えば60U/kgの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から6ヶ月後、40%、35%、30%、もしくは25%未満増加するかどうかの情報（例えば、ここで、この情報は本明細書に記載されるように得られる）が、第三者、例えば、病院、診療所、政府事業体、補償団体、もしくは保険会社（例えば、生命保険会社）に、提供される（例えば、伝達される、例えば、電子的に伝達される）。例えば、医療処置、医療処置の支払い、補償団体による支払い、またはサービスもしくは保険の費用の選択が、情報と

40

50

関連し得る。例えば、第三者は、情報を受け取り、少なくとも部分的に情報に基づいて決定を行い、任意に、情報を伝達するか、または情報に基づいて、処置、支払い、支払いのレベル、補償範囲等の選択を行う。

【0112】

一実施形態では、（例えば、生命または医療）保険の保険料は、III型ゴーシェ病に罹患する対象が、神経パラメータの変化を経験するかどうか、および／またはIII型ゴーシェ病に罹患する対象が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対して注入部位反応を経験するかどうか、またはグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、IgE、IgM、IgG、および／もしくはIgA抗体）を産生するかどうかについての情報と関連するものとして評価される。例えば、保険料は、対象が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充に対して注入部位反応を経験する、またはグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、IgE、IgM、IgG、および／もしくはIgA抗体）を産生する場合、（例えば、ある特定の割合で）増加され得る。

10

【0113】

一実施形態では、（例えば、生命または医療）保険の保険料は、III型ゴーシェ病に罹患する対象が、神経パラメータの変化を経験するかどうか、および／またはIII型ゴーシェ病に罹患する対象の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラゼ治療、例えば9ヶ月間、例えば60U/kgの用量で、イミグルセラゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から9または12ヶ月後、80%、75%、70%、65%、60%、もしくは55%未満増加するかどうか、または対象の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラゼ治療、例えば6ヶ月間、例えば60U/kgの用量で、イミグルセラゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から6ヶ月後、40%、35%、30%、もしくは25%未満増加するかどうかについての情報（例えば、ここで、この情報は本明細書に記載されるように得られる）のに関連するものとして評価される。例えば、保険料は、対象の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラゼ治療、例えば9ヶ月間、例えば60U/kgの用量で、イミグルセラゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から9または12ヶ月後、80%、75%、70%、65%、60%、もしくは55%未満増加する場合、または対象の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラゼ治療、例えば6ヶ月間、例えば60U/kgの用量で、イミグルセラゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から6ヶ月後、40%、35%、30%、もしくは25%未満増加する場合、（例えば、ある特定の割合で）増加され得る。

20

30

【0114】

III型ゴーシェ病に罹患する対象が、神経パラメータの変化を経験するかどうか、および／またはIII型ゴーシェ病に罹患する対象が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対して注入部位反応を経験するかどうか、またはグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、IgE、IgM、IgG、および／もしくはIgA抗体）を産生するかどうかについての情報は、例えば、生命保険での引受プロセスに使用され得る。情報は、対象についてのプロフィールに組み込むことができる。プロフィール中の他の情報は、例えば、生年月日、性別、配偶者の有無、銀行情報、信用情報、子供等を含むことができる。保険証書は、III型ゴーシェ病に罹患する対象が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対して注入部位反応を経験するかどうか、またはグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、IgE、IgM、IgG、および／もしくはIgA抗体）を産生するかどうかについての情報に関連するものとして推奨され得る。保険料またはリスク評価はまた、III型ゴーシェ病に罹患する対象が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対して注入部位反応を経験す

40

50

るかどうか、またはグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、I g E、I g M、I g G、および／もしくはI g A抗体）を産生するかどうかについてと関連するものとしても評価され得る。

【0115】

III型ゴーシェ病に罹患する対象が、神経パラメータの変化を経験するかどうか、および／またはその対象者の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラゼ治療、例えば9ヶ月間、例えば60U/kgの用量で、イミグルセラゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から9ヶ月または12ヶ月後、80%、75%、70%、65%、60%、もしくは55%未満増加するかどうか、または対象の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラゼ治療、例えば6ヶ月間、例えば60U/kgの用量で、イミグルセラゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から6ヶ月後、40%、35%、30%、もしくは25%未満増加するかどうかについての情報は、例えば、生命保険での引受プロセスに使用され得る。情報は、対象についてのプロファイルに組み込むことができる。プロファイル中の他の情報は、例えば、生年月日、性別、配偶者の有無、銀行情報、信用情報、子供等を含むことができる。保険契約は、III型ゴーシェ病に罹患する対象が、神経パラメータの変化を経験するかどうか、および／またはその対象者の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラゼ治療、例えば9ヶ月間、例えば60U/kgの用量で、イミグルセラゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から9ヶ月または12ヶ月後、80%、75%、70%、65%、60%、もしくは55%未満増加するかどうか、または対象の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラゼ治療、例えば6ヶ月間、例えば60U/kgの用量で、イミグルセラゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から6ヶ月後、40%、35%、30%、もしくは25%未満増加するかどうかについての情報と関連するものとして推奨され得る。保険料またはリスク評価はまた、III型ゴーシェ病に罹患する対象が、神経パラメータの変化を経験するかどうか、および／またはその対象者の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラゼ治療、例えば9ヶ月間、例えば60U/kgの用量で、イミグルセラゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から9ヶ月または12ヶ月後、80%、75%、70%、65%、60%、もしくは55%未満増加するかどうか、またはIII型ゴーシェ病に罹患する対象が、神経パラメータの変化を経験するかどうか、および／またはその対象者の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、イミグルセラゼ治療、例えば6ヶ月間、例えば60U/kgの用量で、イミグルセラゼを隔週で投与する）を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から6ヶ月後、40%、35%、30%、もしくは25%未満増加するかどうかについてと関連するものとしても評価され得る。

【0116】

一実施形態では、III型ゴーシェ病に罹患する対象が、神経パラメータの変化を経験するかどうか、および／またはIII型ゴーシェ病に罹患する対象が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対して注入部位反応を経験するかどうか、またはグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、I g E、I g M、I g G、および／もしくはI g A抗体）を産生するかどうかについての情報は、対象に提供されるサービスもしくは治療に対して支払う資金移動を承認する（または本明細書に言及される別の決定を行う）かどうかを判定する関連関係によって分析される。例えば、結果（例えば、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対して注入部位反応を経験する、またはグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に対する抗体（例えば、中和抗体）（例えば、I g E、I g M、I g G、および／もしくはI g A抗体）を産生すること）は、対象が、治療（例えば、ベラグルセラゼ）に適していることを示すことができ、これは、治療コース

10

20

30

40

50

(例えば、ベラグルセラーゼによる)を必要とすることを示唆し、それによって、対象に提供されるサービスもしくは治療(例えば、ベラグルセラーゼ)を示す、またはそれに対する支払承認を生じさせる結果を招く。例えば、事業体、例えば、病院、介護士、政府事業体、または医療費を支払うもしくは補償する保険会社、または他の事業体は、本明細書に記載の方法の結果を使用して、当事者、例えば、対象患者以外の当業者が、患者に提供されるサービス(例えば、特定の療法)または治療に対して支払うかどうかを判定することができる。例えば、第1の事業体、例えば、保険会社は、本明細書に記載の方法の結果を使用して、患者に対して、または患者の代わりに会計支払いを提供するかどうか、例えば、第三者、例えば、商品もしくはサービスの業者、病院、医師、または他の介護士に、患者に提供されるサービスもしくは治療(例えば、ベラグルセラーゼ)に対して、補償するかどうかを判定することができる。例えば、第1の事業体、例えば、保険会社は、本明細書に記載の方法の結果を使用して、保険プランもしくはプログラム、例えば、健康保険もしくは生命保険プランもしくはプログラムにおいて、個人を継続する、中断する、加入させるかどうかを判定することができる。

【0117】

一実施形態では、III型ゴーシェ病に罹患する対象が、神経パラメータの変化を経験するかどうか、および／またはその対象者の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法(例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば9ヶ月間、例えば60U/kgの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する)を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から9ヶ月または12ヶ月後、80%、75%、70%、65%、60%、もしくは55%未満増加するかどうか、またはIII型ゴーシェ病に罹患する対象が、神経パラメータの変化を経験するかどうか、および／またはその対象者の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法(例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば6ヶ月間、例えば60U/kgの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する)を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から6ヶ月後、40%、35%、30%、もしくは25%未満増加するかどうかについての情報は、対象に提供されるサービスもしくは治療に対して支払う資金移動を承認する(または本明細書に言及される別の決定を行う)かどうかを判定する相関関係によって分析される。例えば、結果(例えば、対象者の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法(例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば9ヶ月間、例えば60U/kgの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する)を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から9ヶ月または12ヶ月後、80%、75%、70%、65%、60%、もしくは55%未満増加するかどうか、または対象者の平均血小板数が、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法(例えば、イミグルセラーゼ治療、例えば6ヶ月間、例えば60U/kgの用量で、イミグルセラーゼを隔週で投与する)を開始する前のそれらのベースラインの平均血小板数と比較して、治療から6ヶ月後、40%、35%、30%、もしくは25%未満増加すること)は、対象が、治療(例えば、ベラグルセラーゼ)に適していることを示し得、これは、治療コース(例えば、ベラグルセラーゼによる)を必要とすることを示唆し、それによって、対象に提供されるサービスもしくは治療(例えば、ベラグルセラーゼ)を支払う承認を示すまたは承認する結果を招く。例えば、事業体、例えば、病院、介護士、政府事業体、または医療費を支払うもしくは補償する保険会社、または他の事業体は、本明細書に記載の方法の結果を使用して、当事者、例えば、対象患者以外の当業者が、患者に提供されるサービス(例えば、特定の療法)または治療に対して支払うかどうかを判定することができる。例えば、第1の事業体、例えば、保険会社は、本明細書に記載の方法の結果を使用して、患者に対して、または患者の代わりに会計支払いを提供するかどうか、例えば、第三者、例えば、商品もしくはサービスの業者、病院、医師、または他の介護士に、患者に提供されるサービスもしくは治療(例えば、ベラグルセラーゼ)に対して、補償するかどうかを判定することができる。例えば、第1の事業体、例えば、保険会社は、本明細書に記載の方法の結果を使用して、保険プランもしくはプログラム、例えば、健康保険もしくは生命保険プランもしくはプログラムにおいて、個人を継続する、中断する、

10

20

30

40

50

加入させるかどうかを判定することができる。

【0118】

一態様では、本開示は、データを提供する方法を特徴とする。本方法は、例えば、本明細書に記載の方法によって生成された、本明細書に記載のデータを提供することを含み、記録、例えば、支払いが得られたかどうかを判定するための本明細書に記載の記録を提供する。いくつかの実施形態では、データは、コンピュータ、コンパクトディスク、電話、ファクシミリ、電子メール、または手紙によって提供される。いくつかの実施形態では、データは、第一者によって第二者に提供される。いくつかの実施形態では、第一者は、対象、ヘルスケア提供者、治療を行う医師、保健維持機構（HMO）、病院、政府事業体、または治療を販売もしくは供給する事業体から選択される。いくつかの実施形態では、第二者は、第三者支払人、保険会社、雇用者、雇用者が提供する健康保険、HMO、または政府事業体である。いくつかの実施形態では、第一者は、対象、ヘルスケア提供者、治療を行う医師、HMO、病院、保険会社、または薬物を販売もしくは供給する事業体から選択され、第二者は、政府事業体である。いくつかの実施形態では、第一者は、対象、ヘルスケア提供者、治療を行う医師、HMO、病院、保険会社、または薬物を販売もしくは供給する事業体から選択され、第二者は、保険会社である。

10

【0119】

いくつかの態様では、本開示は、治療で用いるために、単独で、または本明細書に記載の別の薬剤（例えば、イソファゴミンの酒石酸塩、ミグルスタット、または Genz 112638）と併用して、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、ベラグルセラゼ、イミグルセラゼ、または uplyso（商標））の使用を提供する。

20

【0120】

いくつかの態様では、本開示は、薬剤を調製するために、例えば、III型ゴーシェ病を治療するために、単独で、または本明細書に記載の別の薬剤（例えば、イソファゴミンの酒石酸塩、ミグルスタット、または Genz 112638）と併用して、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、ベラグルセラゼ、イミグルセラゼ、または uplyso（商標））の使用を提供する。

【0121】

別の態様では、本開示は、ベラグルセラゼの薬学的組成物を提供する。本組成物は、ベラグルセラゼ、凍結保護剤（例えば、炭水化物（例えば、スクロース））、緩衝塩（例えば、クエン酸塩および／またはクエン酸、例えば、クエン酸ナトリウムおよびクエン酸）、安定剤（例えば、ポリソルベート、例えば、ポリソルベート20）を含む。

30

【0122】

いくつかの実施形態では、組成物は、凍結乾燥され得る。いくつかの実施形態では、凍結乾燥された組成物の水分含量は、1%～6%、例えば、1.3%～6.2%である。いくつかの実施形態では、凍結乾燥された組成物の水分含量は、1%～5%である。いくつかの実施形態では、凍結乾燥された組成物の水分含量は、3%～5%である。いくつかの実施形態では、水分含量は、3%以上である。いくつかの実施形態では、水分含量は、3%である。

【0123】

いくつかの実施形態では、凍結乾燥された組成物が評価され得る。例えば、凍結乾燥された組成物の二次構造は、例えば、FT-IRによって評価され得る。

40

【0124】

他の実施形態では、組成物は、再構成溶液であり得る。例えば、組成物は、注射用滅菌水等の薬学的に許容される担体中の再構成された溶液（例えば、2.2mLの注射用滅菌水入りの200単位のバイアルまたは4.3mLの注射用滅菌水入りの400単位のバイアル）である。いくつかの実施形態では、組成物は、静脈内投与に適している塩化ナトリウム溶液（例えば、静脈内投与に適している0.9%の塩化ナトリウム溶液）をさらに含む、またはそれから成り得る。

【0125】

50

いくつかの実施形態では、再構成溶液は、例えば、分解について、評価され得る。例えば、再構成溶液は、例えば、分解産物の存在について、S E - H P L Cおよび／またはR P - H P L Cによって評価され得る。

【0126】

いくつかの実施形態では、再構成溶液は、酸化について、評価され得る。例えば、再構成溶液は、ペプチドマッピングによって評価され得る。

【0127】

いくつかの態様では、本開示は、試料（例えば、患者試料、例えば、血液または血清）中の抗グルコセブロシダーゼ抗体を検出するためのアッセイ（例えば、方法）を特徴とする。本方法は、

表面（例えば、マイクロウェル）上に固定化したグルコセブロシダーゼ（例えば、ベラグルセラーゼ、イミグルセラーゼ、またはu p l y s o（商標））を提供する（例えば、この表面は、ストレパビジン等のカップリング剤で被覆することができ、該グルコセブロシダーゼ（例えば、ベラグルセラーゼ、イミグルセラーゼ、またはu p l y s o（商標））は、カップリング剤と会合する、例えば、結合する薬剤（例えば、ビオチン）に結合することができ、例えば、該グルコセブロシダーゼ（例えば、ベラグルセラーゼ、イミグルセラーゼ、またはu p l y s o（商標））が、ストレパビジンに結合するビオチンによって、表面に固定化される）、提供することと、

試料中の抗グルコセブロシダーゼ抗体を、存在する場合、固定化したグルコセブロシダーゼに結合させる条件下で、試料を、固定化したグルコセブロシダーゼ（例えば、ベラグルセラーゼ、イミグルセラーゼ、またはu p l y s o（商標））に接触させ、それによって、混合物を形成することと、

任意に、洗浄ステップを行い、固定化したグルコセブロシダーゼに結合していない試料中のあらゆる物質を、混合物から除去することと、

標識されたグルコセブロシダーゼ（例えば、ベラグルセラーゼまたはイミグルセラーゼ）を添加することであって、該標識グルコセブロシダーゼは、検出可能な標識（例えば、ルテニウム標識グルコセブロシダーゼ）で、標識グルコセブロシダーゼを抗グルコセブロシダーゼ抗体（例えば、固定化したグルコセブロシダーゼに結合される）に結合させる条件下で、混合物に標識化され、存在する場合、（好ましくは、標識は、カップリング剤および／またはカップリング剤に結合する薬剤と同じではない、例えば、ビオチンが、表面にグルコセブロシダーゼを固定化するために使用される場合、この標識は、ビオチンではない）、添加することと、

任意に、洗浄ステップを行い、抗グルコセブロシダーゼ抗体に結合しない標識グルコセブロシダーゼを、混合物から除去することと、

混合物中の標識を検出すること（および任意に定量化すること）であって、例えば、標識の検出は、抗グルコセブロシダーゼ抗体が、試料中に存在することを示す、検出することと、を含む。

【0128】

いくつかの実施形態では、検出された標識は、値に対して定量化され、対照、例えば、陰性対照と比較して、検出された標識の値が、陰性対照より大きい場合、試料は、抗グルコセブロシダーゼ抗体を含有する。いくつかの実施形態では、陰性対照は、複数の陰性対照の平均陰性対照値（例えば、バックグラウンド）である。例えば、陰性対照は、正常ヒト血清（N H S）であり得、平均陰性対照値は、複数のN H Sロットの平均、または複数のアッセイから得られた平均陰性対照値であり得る。例えば、この陰性対照値は、1、2、3、4、5、または6 n g / m lの抗体の値であり得、例えば、試料の数より大きい値は、抗グルコセブロシダーゼ抗体が試料中に存在することを示す。別例として、陰性対照値は、200、250、300（例えば、306）、350、または400であり得、例えば、試料の数より大きい値は、抗グルコセブロシダーゼ抗体が試料中に存在することを示す。

【0129】

いくつかの実施形態では、アッセイは、抗ベラグルセラーゼ抗体を検出するためのものである。別の実施形態では、アッセイは、抗イミグルセラーゼ抗体を検出するためのものである。いくつかの実施形態では、アッセイは、抗u p l y s o（商標）抗体を検出するためのものである。

【0130】

いくつかの態様では、本開示は、試料（例えば、患者試料、例えば、血液または血清）中の抗グルコセレブロシダーゼ抗体（例えば、I g G抗グルコセレブロシダーゼ抗体）を検出するためのアッセイを特徴とする。本方法は、試料中の抗グルコセレブロシダーゼ抗体を、存在する場合、固定化したグルコセレブロシダーゼに結合させる条件下で、試料を、標識グルコセレブロシダーゼ（例えば、ベラグルセラーゼまたはイミグルセラーゼ）（ここで、グルコセレブロシダーゼは、検出可能な標識（例えば、グルコセレブロシダーゼは、¹²⁵I 標識である）で標識される）に接触させ、それによって、混合物を形成することと、抗グルコセレブロシダーゼ抗体を、存在する場合、樹脂に結合させる条件下で、混合物を、樹脂（例えば、プロテインG、プロテインA、プロテインA／G、またはプロテインL樹脂）（例えば、プロテインGスピンカラム）に適用させることと、任意に、洗浄ステップを行い、抗グルコセレブロシダーゼ抗体に結合していない標識グルコセレブロシダーゼを、混合物から除去することと、混合物中（例えば、樹脂上）の標識を検出すること（および任意に定量化すること）であって、例えば、標識の検出は、抗グルコセレブロシダーゼ抗体が、試料中に存在することを示す、検出することと、を含む。

【0131】

いくつかの実施形態では、アッセイは、抗ベラグルセラーゼ抗体を検出するためのものである。別の実施形態では、アッセイは、抗イミグルセラーゼ抗体を検出するためのものである。いくつかの実施形態では、アッセイは、抗u p l y s o（商標）抗体を検出するためのものである。

【0132】

いくつかの実施形態では、検出された標識は、値に対して定量化され、対照、例えば、陰性対照と比較して、検出された標識の値が、陰性対照より大きい場合、試料は、抗グルコセレブロシダーゼ抗体を含有する。いくつかの実施形態では、陰性対照は、複数の陰性対照の平均陰性対照値（例えば、バックグラウンド）である。例えば、陰性対照は、正常ヒト血清（N H S）であり得、平均陰性対照値は、複数のN H Sロットの平均、または複数のアッセイから得られた平均陰性対照値であり得る。

【0133】

いくつかの態様では、本開示は、試料（例えば、患者試料、例えば、血液または血清）中のヒト抗グルコセレブロシダーゼ抗体を検出するためのアッセイを特徴とする。本方法には、表面（例えば、マイクロウェル）上に固定化したグルコセレブロシダーゼ（例えば、ベラグルセラーゼ、イミグルセラーゼ、またはu p l y s o（商標））を提供することであって、（例えば、この表面は、ストレパビジン等のカップリング剤で被覆することができ、該グルコセレブロシダーゼは、カップリング剤と会合する、例えば、結合する薬剤（例えば、ビオチン）に結合することができ、例えば、該グルコセレブロシダーゼを、ストレパビジンに結合するビオチンによって、表面に固定化する）、提供することと、試料中のヒト抗グルコセレブロシダーゼ抗体を、存在する場合、固定化したグルコセレブロシダーゼに結合することが可能であるという条件下で、試料を、固定化したグルコセレブロシダーゼに接触させ、それによって、混合物を形成することと、任意に、洗浄ステップを行い、固定化したグルコセレブロシダーゼに結合されていない試料中のあらゆる物質を混合物から除去することと、ヒト抗グルコセレブロシダーゼ抗体に結合する抗体を、混合物に添加することであって、該ヒト抗グルコセレブロシダーゼ抗体に結合する抗体は、検出可能な標識（例えば、ルテ

ニウムもしくはビオチン)で、ヒト抗グルコセレブロシダーゼ抗体に結合する標識抗体を、ヒト抗グルコセレブロシダーゼ抗体(例えば、固定化したグルコセレブロシダーゼに結合される)に結合する条件下で、標識化し、存在する場合、(好ましくは、標識は、カップリング剤および/またはカップリング剤に結合する薬剤と同じではない、例えば、ビオチンが、表面にグルコセレブロシダーゼを固定化するために使用される場合、この標識は、ビオチンではない)、添加することと、任意に、洗浄ステップを行い、ヒト抗グルコセレブロシダーゼ抗体に結合されないヒト抗グルコセレブロシダーゼ抗体に結合する標的抗体を、混合物から除去することと、混合物中の標識を検出すること(および任意に定量化すること)であって、例えば、標識の検出は、ヒト抗グルコセレブロシダーゼ抗体が、試料中に存在することを示す、検出することと、を含む。

10

【0134】

いくつかの実施形態では、アッセイは、抗ベラグルセラーゼ抗体を検出する。いくつかの実施形態では、アッセイは、抗イミグルセラーゼ抗体を検出する。いくつかの実施形態では、アッセイは、抗u p l y s o (商標)抗体を検出する。

【0135】

いくつかの実施形態では、検出された標識は、値に対して定量化され、対照、例えば、陰性対照と比較して、検出された標識の値が、陰性対照より大きい場合、試料は、抗ベラグルセラーゼ抗体を含有する。いくつかの実施形態では、陰性対照は、複数の陰性対照の平均陰性対照値(例えば、バックグラウンド)である。例えば、陰性対照は、正常ヒト血清(NH S)であり得、平均陰性対照値は、複数のNH Sロットの平均、または複数のアッセイから得られた平均陰性対照値であり得る。

20

【0136】

いくつかの実施形態では、ヒト抗グルコセレブロシダーゼ抗体に結合する抗体は、アイソタイプ特異的であり、ヒト抗グルコセレブロシダーゼ抗体に結合するアイソタイプ特異的抗体は、それが特異的なアイソタイプのヒト抗体に特異的に結合する。

【0137】

いくつかの実施形態では、ヒト抗グルコセレブロシダーゼ抗体に結合する抗体は、I g A特異的抗体であり、試料中のI g Aヒト抗グルコセレブロシダーゼ抗体に結合する。

【0138】

いくつかの実施形態では、ヒト抗グルコセレブロシダーゼ抗体に結合する抗体は、I g E特異的抗体であり、試料中のI g Eヒト抗グルコセレブロシダーゼ抗体に結合する。

30

【0139】

いくつかの実施形態では、ヒト抗グルコセレブロシダーゼ抗体に結合する抗体は、I g M特異的抗体であり、試料中のI g Mヒト抗グルコセレブロシダーゼ抗体に結合する。

【0140】

いくつかの実施形態では、ヒト抗グルコセレブロシダーゼ抗体に結合する抗体は、I g G特異的抗体であり、試料中のI g Gヒト抗グルコセレブロシダーゼ抗体に結合する。

【0141】

いくつかの態様では、本開示は、(例えば、試料中の)抗グルコセレブロシダーゼ抗体が、グルコセレブロシダーゼ(例えば、ベラグルセラーゼまたはイミグルセラーゼ)活性を中和する(例えば、抑制する)かどうかを判定する方法を特徴とする。本方法には、ヒトマクロファージマンノース受容体(MMR)を発現する細胞(例えば、ヒト細胞、例えば、ヒト線維芽細胞)を提供することと、

40

抗グルコセレブロシダーゼ抗体を細胞に接触させ、それによって、混合物を形成することと、

標識グルコセレブロシダーゼ(例えば、ベラグルセラーゼ、イミグルセラーゼ、またはu p l y s o (商標))を、混合物に接触させることであって、抗グルコセレブロシダーゼ抗体がない場合に、標識グルコセレブロシダーゼをMMRに結合することを可能にするという条件下で(例えば、MMRへのグルコセレブロシダーゼの結合は、グルコセレブロ

50

シダーゼの細胞取り込みを可能にする)、該グルコセレブロシダーゼは、検出可能な標識で標識される(例えば、グルコセレブロシダーゼは、蛍光標識、例えば、A l e x a F L U O R (登録商標) 4 8 8もしくはフルオレセインイソチオシアネート(F I T C)等の緑色蛍光色素で標識される)、接触させることと、

非結合標識グルコセレブロシダーゼおよび(例えば、トリプシン消化によって)細胞表面に結合される標識グルコセレブロシダーゼを除去することと、

細胞中の標識グルコセレブロシダーゼの量を測定することと、を含む。

【0142】

いくつかの実施形態では、標識グルコセレブロシダーゼのレベルは、対照、例えば、同一の条件下で、抗グルコセレブロシダーゼ抗体がない場合に検出される標識グルコセレブロシダーゼのレベルと比較される。

【0143】

いくつかの実施形態では、細胞は、F c受容体(例えば、ヒトF c受容体)を発現しない。

【0144】

いくつかの実施形態では、本方法は、中和抗ベラグルセラーゼ抗体が存在するかどうかを検出する。いくつかの実施形態では、本方法は、中和抗イミグルセラーゼ抗体が存在するかどうかを検出する。いくつかの実施形態では、本方法は、中和抗u p l y s o (商標)抗体が存在するかどうかを検出する。

【0145】

いくつかの実施形態では、本方法は、抗イミグルセラーゼ抗体が、イミグルセラーゼ活性を中和するかどうかを検出する。いくつかの実施形態では、本方法は、抗ベラグルセラーゼ抗体が、ベラグルセラーゼ活性を中和するかどうかを検出する。いくつかの実施形態では、本方法は、抗u p l y s o (商標)抗体が、u p l y s o (商標)活性を中和するかどうかを検出する。

【0146】

いくつかの実施形態では、本方法は、抗イミグルセラーゼ抗体が、ベラグルセラーゼおよび/またはu p l y s o (商標)活性を中和するかどうかを検出する。いくつかの実施形態では、本方法は、抗ベラグルセラーゼ抗体が、イミグルセラーゼおよび/またはu p l y s o (商標)活性を中和するかどうかを検出する。いくつかの実施形態では、本方法は、抗u p l y s o (商標)抗体が、イミグルセラーゼおよび/またはベラグルセラーゼ活性を中和するかどうかを検出する。

【0147】

いくつかの態様では、本開示は、(例えば、試料中の)抗ベラグルセラーゼ抗体が、イミグルセラーゼ活性を中和する(例えば、阻害する)かどうかを判定する方法を特徴とする。本方法は、

ヒトマクロファージマンノース受容体(MMR)を発現する細胞(例えば、ヒト細胞、例えば、ヒト線維芽細胞)を提供することと、

抗ベラグルセラーゼ抗体を細胞に接触させ、それによって、混合物を形成することと、
標識されたイミグルセラーゼを、混合物に接触させることであって、該イミグルセラーゼは、抗ベラグルセラーゼ抗体がない場合に、標識イミグルセラーゼをMMRに結合することを可能にするという条件下で(例えば、MMRへのイミグルセラーゼの結合は、イミグルセラーゼの細胞取り込みを可能にする)、検出可能な標識で標識される(例えば、イミグルセラーゼは、蛍光標識、例えば、A l e x a F L U O R (登録商標) 4 8 8もしくはフルオレセインイソチオシアネート(F I T C)等の緑色蛍光色素で標識される)、接触させることと、

非結合標識イミグルセラーゼおよび(例えば、トリプシン消化によって)細胞表面に結合される標識イミグルセラーゼを除去することと、

細胞中の標識イミグルセラーゼの量を測定することと、

10

20

30

40

50

を含む。

【0148】

いくつかの実施形態では、標識イミグルセララーゼのレベルは、対照、例えば、同一の条件下で、抗ベラグルセララーゼ抗体がない場合に検出される標識イミグルセララーゼのレベルと比較される。

【0149】

いくつかの実施形態では、細胞は、Fc受容体（例えば、ヒトFc受容体）を発現しない。

【0150】

いくつかの態様では、本開示は、（例えば、試料中の）抗イミグルセララーゼ抗体が、ベラグルセララーゼ活性を中和する（例えば、阻害する）かどうかを判定する方法を特徴とする。本方法は、

ヒトマクロファージマンノース受容体（MMR）を発現する細胞（例えば、ヒト細胞、例えば、ヒト線維芽細胞）を提供することと、

抗イミグルセララーゼ抗体を細胞に接触させ、それによって、混合物を形成することと、

標識されたベラグルセララーゼを、混合物に接触させることであって、該ベラグルセララーゼは、抗イミグルセララーゼ抗体がない場合に、標識ベラグルセララーゼをMMRに結合することを可能にする（例えば、MMRへのベラグルセララーゼの結合は、ベラグルセララーゼの細胞取り込みを可能にする）という条件下で、検出可能な標識で標識される（例えば、イミグルセララーゼは、蛍光標識、例えば、Alexa FLUOR（登録商標）488もしくはフルオレセインイソチオシアネート（FITC）等の緑色蛍光色素で標識される）、接触させることと、

非結合標識ベラグルセララーゼおよび（例えば、トリプシン消化によって）細胞表面に結合される標識ベラグルセララーゼを除去することと、

細胞中の標識ベラグルセララーゼの量を測定することと、を含む。

【0151】

いくつかの実施形態では、標的ベラグルセララーゼのレベルは、対照、例えば、同一の条件下で、抗イミグルセララーゼ抗体が存在しない場合に検出される標識ベラグルセララーゼのレベルと比較される。

【0152】

いくつかの実施形態では、細胞は、Fc受容体（例えば、ヒトFc受容体）を発現しない。

【0153】

いくつかの態様では、本開示は、ハイブリッド抗体を特徴とし、該ハイブリッド抗体は、非ヒト抗薬物抗体およびヒト免疫グロブリン（Ig）を含む。

【0154】

いくつかの実施形態では、非ヒト抗薬物IgG抗体は、ヒツジ抗薬物IgG抗体である。

【0155】

いくつかの実施形態では、抗薬物抗体は、ベラグルセララーゼに結合する。

【0156】

いくつかの実施形態では、抗薬物抗体は、イミグルセララーゼに結合する。

【0157】

いくつかの実施形態では、抗薬物抗体は、uplyso（商標）に結合する。

【0158】

いくつかの実施形態では、ヒトIgは、IgAである。

【0159】

いくつかの実施形態では、ヒトIgは、IgEである。

【0160】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、ヒト I g は、I g M である。

【0161】

いくつかの実施形態では、ヒト I g は、I g G である。

【0162】

いくつかの実施形態では、非ヒト抗薬物抗体は、I g G 抗体である。

【0163】

いくつかの実施形態では、非ヒト抗薬物抗体およびヒト I g は、化学架橋剤、例えば、長スペーサーアーム化学架橋剤、例えば、スクシンイミジル 6-[3'-2-ピリジルジチオオプロピオンアミド]ヘキサン酸塩 (LC-SPDP) によって、一緒に共役される。

10

【0164】

いくつかの実施形態では、ハイブリッド抗体は、試料中の抗薬物抗体のレベルおよび／またはイソタイプを検出するおよび／または測定するアッセイにおいて、例えば、本明細書に記載の方法において、陽性対照として使用される。

【0165】

いくつかの実施形態では、ハイブリッド抗体は、(例えば、試料中の)抗グルコセブロシダーゼ抗体が、グルコセブロシダーゼ(例えば、ベラグルセラーゼまたはイミグルセラーゼ)活性を中和する(例えば、阻害する)かどうかを判定するためのアッセイにおいて、例えば、本明細書に記載の方法において、陽性対照として使用される。例えば、ハイブリッド抗体は、アッセイにおいて、(例えば、試料中の)抗グルコセブロシダーゼ抗体として使用される。

20

【0166】

いくつかの態様では、本開示は、細胞へのグルコセブロシダーゼ(例えば、ベラグルセラーゼまたはイミグルセラーゼ)の細胞取り込み(例えば、内在化)を測定する方法を特徴とする。本方法は、

グルコセブロシダーゼ(例えば、ベラグルセラーゼまたはイミグルセラーゼ)を、細胞(例えば、ヒト単球性白血病リンパ腫細胞株(例えば、U937)の細胞またはマウスマクロファージ細胞株(例えば、J774)の細胞)に接触させ、それによって、混合物を形成することと、

混合物を、例えば、細胞へのグルコセブロシダーゼ(例えば、ベラグルセラーゼまたはイミグルセラーゼ)の細胞取り込みを可能にするために、(例えば、1、2、3、4、5、6、もしくは7時間、または一晩)インキュベートすることと、

30

細胞へのグルコセブロシダーゼ(例えば、ベラグルセラーゼまたはイミグルセラーゼ)の取り込み量を測定することと、を含む。

【0167】

いくつかの実施形態では、取り込み量は、細胞中のグルコセブロシダーゼ酵素活性を測定することによって測定される。いくつかの実施形態では、切断の際に、蛍光を発する合成基質(例えば、4-MU-gluc)が使用される。

【0168】

40

いくつかの実施形態では、取り込み量は、細胞内グルコセブロシダーゼタンパク質レベルを測定することによって測定される。いくつかの実施形態では、ウエスタンブロット分析が使用される。いくつかの実施形態では、免疫組織化学分析が使用される(例えば、透過性細胞における免疫組織化学)。

【0169】

いくつかの実施形態では、細胞は、測定ステップ前に1回以上洗浄される。

【0170】

いくつかの実施形態では、混合物の pH は、7.5 である。

【0171】

いくつかの実施形態では、マンノース-6-リン酸塩 (M6P) が、混合物中に存在す

50

る。

【0172】

いくつかの実施形態では、マンナンが、混合物中に存在する。

【0173】

いくつかの実施形態では、カルシウムが、混合物中に存在する。

【0174】

いくつかの実施形態では、取り込み量は、標準量、例えば、グルコセレブロシダーゼ（例えば、ベラグルセラーゼまたはイミグルセラーゼ）を細胞に接触させない場合に測定された取り込み量と比較するか、またはマンノース-6-リン酸塩がある場合またはない場合に測定された取り込み量を比較するか、またはカルシウムがある場合またはない場合に測定された取り込み量を比較する。

10

【0175】

いくつかの実施形態では、グルコセレブロシダーゼは、ベラグルセラーゼである。

【0176】

いくつかの実施形態では、グルコセレブロシダーゼは、イミグルセラーゼである。

【0177】

いくつかの実施形態では、ベラグルセラーゼの取り込み量は、イミグルセラーゼの取り込み量と比較される（例えば、同じ条件下で）。

【0178】

「対象」という用語は、ヒト、非ヒト霊長類、霊長類、ヒヒ、チンパンジー、サル、齧歯動物（例えば、マウス、ラット）、ウサギ、ネコ、イヌ、ウマ、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ブタ等を含む、そのようなものとして分類される任意の動物を含むがこれらに限定されない、任意の哺乳動物を指す。

20

【0179】

「単離された」という用語は、その自然環境が実質的にない分子を指す。例えば、単離されたタンパク質は、細胞物質またはこれが由来する細胞または組織源からの他のタンパク質が実質的にない。この用語は、単離されたタンパク質が、治療組成物として投与されるために十分純粋であるか、または少なくとも70%~80% (w/w) 純粋であり、さらに好ましくは、少なくとも80%~90% (w/w) 純粋であり、なおさらに好ましくは、90~95% 純粋であり、最も好ましくは、少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、99.8%、または100% (w/w) 純粋である。

30

【0180】

本明細書で使用される、「約」という用語は、この用語で制限される値の最大±10%を指す。例えば、約50 mMは、50 mM±5 mMを指し、約4%は、4%±0.4%を指す。

【0181】

「治療上有効用量」および「治療上有効量」という用語は、III型ゴーシェ病の、症状の防止（例えば、症状、例えば、III型ゴーシェ病に罹患していると診断される対象におけるIII型ゴーシェ病の症状の80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の防止）、症状の発症の遅延、または症状の改善をもたらす、化合物の量を指す。治療上有効量は、例えば、治療、防止、重篤性の軽減、発症の遅延、および／またはIII型ゴーシェ病に関連する疾患の1つ以上の症状の発生する危険性を軽減するのに十分である。有効量は、当業者に公知の方法によって、およびこの説明の後の項に記載されるように決定することができる。

40

【0182】

「治療」および「治療方法」という用語は、既存の疾患の治療および／または予防／防止措置を指す。治療を必要とする者には、特定の医学的疾患を既に有する個人、ならびに疾患の危険性がある者もしくは疾患を有する者、または疾患を最終的に得るかもしれない者が含まれ得る。治療の必要性は、例えば、疾患の発症と関連する1つ以上の危険因子の存在、疾患の存在もしくは進行、または疾患を有する対象の治療に対する感受性の可能性

50

によって評価される。治療には、疾患の進行を遅らせる、または逆転させることが含まれ得る。

【0183】

「治療する」という用語は、統計的に有意な程度あるいは当業者に検出可能な程度のいずれかで、疾患（例えば、本明細書に記載の疾患）と関連する状態、症状、もしくはパラメータを改善もしくは防止する、または疾患の発症、進行、もしくは悪化を防止するのに有効な量、方式、および／または様式において療法を実施することを指す。有効量、方式、または様式は、対象によって異なり得、対象に対して調整され得る。

【0184】

本明細書で使用される「注入部位反応」とは、グルコセレブロンダーゼ酵素補充療法の注入中、または注入直後（例えば、グルコセレブロンダーゼ酵素補充治療を対象に注入してから12時間以内）、対象によって発現される過敏性の1つ以上の症状を指す。症状には、例えば、掻痒、熱感、腫れ、もしくは膿瘍、発赤、じんましん／血管性浮腫、胸部の不快感、頻脈、チアノーゼ、呼吸器症状、および知覚異常が含まれる。

【0185】

「組み合わせ」という用語は、同じ患者を治療するための2つ以上の薬剤または療法の使用を指し、薬剤または療法の使用または作用は、時間的に重なる。薬剤または療法は、同時に（例えば、患者に投与される単一の製剤として、または同時に投与される2つの別々の製剤として）、または任意の順序で順次投与することができる。

【0186】

本明細書に言及される全ての刊行物、特許出願、特許、および他の参考文献は、参照によってその全体が組み込まれる。不一致がある場合、定義を含んで本出願が優先される。加えて、物質、方法、および実施例は、例示のみであり、限定することを意図しない。

【0187】

本発明の1つ以上の実施形態の詳細は、添付の図および以下の説明に記載される。

【図面の簡単な説明】

【0188】

【図1-1】第I／II相試験における、血液学的値の平均変化率（％）を示す。

【図1-2】第I／II相試験における、臓器値の平均変化率（％）を示す。

【図1-3】第I／II相試験における、バイオマーカーの平均変化率（％）を示す。

【図2】第I／II相および継続試験における主要な臨床的パラメータの平均変化率（％）を示す。

【図3】TKT025における、ベースラインからのTKT025EXT（N=10）の平均血液学的パラメータの変化を示す。

【図4】TKT025における、ベースラインからのTKT025EXT（N=10）の平均の正規化した臓器容積の変化を示す。

【図5】ベースラインからの腰椎の平均ZスコアのTKT025およびTKT025EXTの経時変化を示す。

【図6】ベースラインからの大腿骨頸の平均ZスコアのTKT025およびTKT025EXTの経時変化を示す。

【図7】ベースラインからのTKT032（N=25）の平均ヘモグロビン濃度の変化を示す。

【図8】ベースラインからのTKT032（N=25）の平均血小板数の変化を示す。

【図9】ベースラインからのTKT032（N=25）の平均の正規化した脾臓体積の変化を示す。

【図10】ベースラインからのTKT032（N=25）の平均の正規化した肝体積の変化を示す。

【図11】ベースラインからのHGT-GCB-039（N=34）の平均ヘモグロビン濃度の変化を示す。

【図12】ベースラインからのHGT-GCB-039（N=34）の平均血小板数の変

10

20

30

40

50

化を示す。

【図13】脾臓のない患者の血小板数のベースラインからのHGT-GCB-039 (N=34) の平均変化を示す。

【図14】ベースラインからのHGT-GCB-039 (N=34) の平均の正規化した肝体積の変化を示す。

【図15】ヘモグロビン濃度のベースラインからのTKT034の平均変化を示す。

【図16】血小板数のベースラインからのTKT034の平均変化率を示す。

【図17】正規化した肝体積のベースラインからのTKT034の平均変化率を示す。

【図18】正規化した脾臓体積のベースラインからのTKT034の平均変化率を示す。

【図19】血漿キトトリオシダーゼのベースラインからのTKT034の平均変化率を示す。

10

【図20】血漿CCL18のベースラインからのTKT034の平均変化率を示す。

【図21】ベラグルセラーゼアルファ臨床試験の患者の免疫原性評価を示す。

【図22】電気化学発光 (ECL) 免疫測定法による抗薬物抗体のスクリーニングを示す。

。

【図23】スクリーニングアッセイの用量反応曲線を示す。

【図24】IgG ADA確認アッセイを示す。

【図25】RIPアッセイの用量反応曲線を示す。

【図26】IgA、IgM、およびIgE ADA確認アッセイを示す。

【発明を実施するための形態】

20

【0189】

本開示は、部分的に、ベラグルセラーゼが、対象（例えば、ゴーシェ病に罹患する対象）への投与の際、イミグルセラーゼよりも少ない免疫応答（例えば、抗体の産生が少ない、例えば、中和抗体の産生が少ない）を導くという発見に基づく。ベラグルセラーゼが、対象（例えば、ゴーシェ病に罹患する対象）への投与の際、イミグルセラーゼよりも少ない免疫応答を引き出し、ベラグルセラーゼが、対象（例えば、ゴーシェ病に罹患する対象）に投与する場合、イミグルセラーゼよりも血小板数の増加をもたらすことができることを発見した。本発明は、とりわけ、ゴーシェ病に罹患する対象のための治療の選択、ベラグルセラーゼ（例えば、単独で、または別の療法と併用して）による治療のための対象を選択するための組成物および方法、ゴーシェ病のための治療を受けている対象における注射部位反応を軽減するための方法に関する。

30

【0190】

ベラグルセラーゼ

ベラグルセラーゼは、ヒト細胞株中での遺伝子活性化によって産生されるヒトβ-グルコセレブロシダーゼである。遺伝子活性化は、選択されたヒト細胞株中での内因性β-グルコセレブロシダーゼ遺伝子を活性化するプロモーターとの標的再結合を指す。ベラグルセラーゼは、約63kDaの単量体糖タンパク質として分泌され、天然ヒトタンパク質と同一の配列を有する497個のアミノ酸から成る。ベラグルセラーゼのアミノ酸配列は、Zimran et al. (2007) Blood Cells Mol Dis, 39:39:115-118に記載される。

40

【0191】

ベラグルセラーゼアルファのグリコシル化は、細胞培養中、マンノシダーゼI阻害剤のキフネンシンを用いることによって改変し、これは、グリカン当たり6~9マンノース単位を有する主として高マンノース型グリカンを含むタンパク質の分泌をもたらす。ベラグルセラーゼのグリカン構造の概要を以下に提供する。

【0192】

糖鎖付加部位	主要グリカン	他のグリカン	
Asn19	高マンノース (Man) ₉ (GlcNAc) ₂	高マンノース (Man) ₆₋₈ (GlcNAc) ₂ リン酸化高マンノース (Phos) ₁ (Man) ₈₋₉ (GlcNAc) ₂ GlcNAcによりキャップしたリン酸塩 (Phos) ₁ (Man) ₈₋₉ (GlcNAc) ₃ ハイブリッド (Hex) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₃ (Fuc) ₁	
Asn59	高マンノース (Man) ₉ (GlcNAc) ₂	高マンノース (Man) ₅₋₈ (GlcNAc) ₂ リン酸化高マンノース (Phos) ₁ (Man) ₇₋₉ (GlcNAc) ₂ GlcNAcによりキャップしたリン酸塩 (Phos) ₁ (Man) ₈₋₉ (GlcNAc) ₃ ハイブリッド (NeuAc) ₁ (Gal) ₁ (Man) ₅ (GlcNAc) ₃ (Fuc) ₁ 複合体 (NeuAc) ₀₋₂ (Gal) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₄ (Fuc) ₁ (Gal) ₃ (Man) ₃ (GlcNAc) ₅ (Fuc) ₁	10
Asn146	高マンノース (Man) ₉ (GlcNAc) ₂	高マンノース (Man) ₆₋₈ (GlcNAc) ₂ リン酸化高マンノース (Phos) ₁ (Man) ₇₋₉ (GlcNAc) ₂ GlcNAcによりキャップしたリン酸塩 (Phos) ₁ (Man) ₉ (GlcNAc) ₃ ハイブリッド (NeuAc) ₁ (Gal) ₁ (Man) ₅ (GlcNAc) ₃ (Fuc) ₁	20
Asn270	高マンノース (Man) ₉ (GlcNAc) ₂	高マンノース (Man) ₆₋₈ (GlcNAc) ₂ リン酸化高マンノース (Phos) ₁ (Man) ₆₋₉ (GlcNAc) ₂ GlcNAcによりキャップしたリン酸塩 (Phos) ₁ (Man) ₉ (GlcNAc) ₃ ハイブリッド (Gal) ₁ Man) ₇ GlcNAc) ₃ Fuc) ₁ (NeuAc) ₁ (Gal) ₁ (Man) ₅ (GlcNAc) ₃ (Fuc) ₁ 複合体 (NeuAc) ₂ (Gal) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₄ (Fuc) ₁	30
Asn462	検出されず	検出されず	

ベラグルセラーゼは、ドメイン I I I（残基 76～381 および 416～430）、（ β/α ）₈（TIM）バレル中に位置する触媒部位を有する、3つの非隣接ドメインを有する。 40

【0193】

ベラグルセラーゼ（VPRIV（商標））は、Shire Human Genetics Therapies, Incから市販されている。ベラグルセラーゼの作製方法は、例えば、米国特許第7,138,262号に記載されている。

【0194】

製剤形態 ベラグルセラーゼ（ベラグルセラーゼアルファとして本明細書でも称される）は、注射用滅菌水と再構成した後の静脈内（IV）注入用の単一使用のバイアル中の溶液の滅菌された、白色からオフホワイト色の防腐剤の入っていない凍結乾燥された粉末で 50

ある。

【0195】

定性および定量的組成 注射用滅菌水と再構成した後、各バイアルは、約2.5mg/mL(40U/mL)のベラグルセラゼアルファ、50mg/mLのスクロース、12.9mg/mLのクエン酸ナトリウム二水和物、1.3mg/mLのクエン酸一水和物、および0.11mg/mLのポリソルベート20を含有する。各バイアルは、200Uバイアルに対して2.0mL、および400Uバイアルに対して4.0mLの抽出体積を含有する。ベラグルセラゼは、ベラグルセラゼアルファの200U/バイアル(5mg)または400U/バイアル(10mg)中に供給され、酵素活性の1単位(U)は、37℃で、1分間当たり、1マイクロモルのp-ニトロフェニルβ-D-グルコピラノシドをp-ニトロフェノールに変換するために必要とされる酵素の量として定義される。

10

【0196】

容器および内容物 ベラグルセラゼは、5mL(200U/バイアル提示)あるいは20mL(400U/バイアル提示)のいずれかのI型のガラス製バイアル中に供給される溶液の滅菌した、凍結乾燥した粉末である。各バイアルは、200U(5mg)あるいは400U(10mg)のいずれかのベラグルセラゼアルファを含有する。バイアルは、フッ素樹脂コーティングしたブチルゴム製ストッパーで閉じ、フリップオフのプラスチック製キャップのあるアルミニウムオーバーシールで密閉する。

【0197】

使用取扱説明書 ベラグルセラゼは、静脈内注入向きの溶液のための凍結乾燥した粉末である。バイアルは、使い捨てバイアルである。ベラグルセラゼは、同じ注入の他の製品とともに注入されない。注入の全容積は、60分間にわたって投与される。ベラグルセラゼは、以下の通りに取り扱われるべきである：

20

1. 個人の患者の体重および処方された用量に基づいて再構成されるべきバイアル数を決定する。
2. 冷蔵庫から必要なバイアル数を取り出す。200単位のバイアルを2.2mLの注射用滅菌水と、および400単位のバイアルを4.3mLの注射用滅菌水と再構成する。振とうしない。
3. 希釈前に、バイアル中の溶液を可視的に検査する。溶液が変色している場合、あるいは粒子状物質が存在する場合、使用しない。
4. 適切なバイアル数から計算した薬物の容量を抽出する。
5. 100mLの静脈内投与に適している0.9%の塩化ナトリウム溶液中に必要とされる全容量を希釈し、軽く揺するが振とうさせない。

30

【0198】

用量 ベラグルセラゼは、対象の体重の2.5U/kg~60U/kgの間(およびそれを含む)の用量で、例えば、15U/kg~60U/kg(例えば、15U/kg、30U/kg、45U/kg、または60U/kg)の用量で投与される。ベラグルセラゼは、2U/kg/分、1.5U/kg/分、1U/kg/分、または0.5U/kg/分の速度で投与することができる。ベラグルセラゼの用量は、対象に、隔週投与される。

40

【0199】

ベラグルセラゼは、15~60U/kg(例えば、30U/kg~60U/kg、例えば、15U/kg、30U/kg、45U/kg、または60U/kg)の用量で、22.5U/kg以下の用量で、22.5~37.5U/kgの用量で、37.5~52.5U/kgの用量で、または52.5U/kg以上の用量で投与することができる。いくつかの実施形態では、ベラグルセラゼは、2.5U/kg~60U/kgの用量で投与することができる。いくつかの実施形態では、ベラグルセラゼは、静脈内注入によって、隔週投与することができる。他の実施形態では、ベラグルセラゼは、静脈内注入によって、毎週投与することができる。いくつかの実施形態では、ベラグルセラゼは、静脈内注入によって、例えば、2.5U/kgの用量で、1週間に3回投与することができる

50

。

【0200】

いくつかの実施形態では、用量（例えば、本明細書に記載の用量）の注入は、2時間未満、例えば、90分間未満、80分間未満、70分間未満、60分間未満、50分間未満、または45分間未満にわたって起こる。

【0201】

組み換え技術によって産生されたヒトグルコセレブロシダーゼ 組み換え技術によって産生されたヒトグルコセレブロシダーゼの他の形態が、本明細書に記載の組成物、アッセイ、および方法に使用することができる。例えば、イミグルセラゼ（C e r a z y m e（登録商標））は、チャイニーズハムスター卵巣（C H O）細胞中に組み換え技術によって産生され、市販されている。加えて、植物細胞中に発現される組み換えグルコセレブロシダーゼ（p r G C D）のu p l y s o（商標）を使用することができる。植物組み換えグルコセレブロシダーゼは、例えば、米国公開第20090208477号および第20080038232号、ならびにP C T公開W O第2004/096978号およびW O第2008/132743号に記載される方法によって得ることができる。

10

【0202】

維持用量

対象の状態が改善されると、治療の維持用量が、必要に応じて、投与され得る。その後、投与の投与量または頻度、またはその両方は、症状と相関するものとして、改善された状態を保持するレベルまで軽減され得る。しかしながら、対象は、疾患のいかなる症状が再発する際にも、長期標準の間欠的治療が必要となり得る。

20

【0203】

60 U / k g の用量のベラグルセラゼで隔週治療された対象は、ベラグルセラゼによる全ての治療から約15～18ヶ月後、4つの推奨された治療標準（ヘモグロビン濃度、血小板数、肝体積、脾臓体積）のうちの2つの改善を示すと、隔週での30 U / k g の軽減された用量に切り替えた。この用量の減少にもかかわらず、これらの対象は、48ヶ月間の期間にわたって、4つのパラメータ（ヘモグロビン濃度、血小板数、脾臓体積、および肝体積）、ならびにバイオマーカー（キトトリオシダーゼおよびC C L 18）の臨床的に有意な変化を示した。

【0204】

ベラグルセラゼとイミグルセラゼの間の定性的比較は、ゴーシェ病患者に対して可能性のあるさらなる利点を示す。イミグルセラゼの用量のほぼ半分までの減量にもかかわらず、患者は、ヘモグロビン濃度の著しい増加、36ヶ月後の血小板数の継続的な増加、および肝臓／脾臓体積の低下を示して、4つのパラメータにおいて、臨床的に改善を継続した。

30

【0205】

代替療法

ベラグルセラゼの投与（さらなる薬剤を有する、または有さない）は、例えば、別の療法（すなわち、ベラグルセラゼ以外の療法、例えば、イミグルセラゼ、アルグルセラゼ、u p l y s o（商標）、イソファゴミンの酒石酸塩、ミグルスタット、またはG e n z 1 1 2 6 3 8）により既に治療された対象のための、代替治療として使用することができる。例えば、別の療法によりゴーシェ病の治療を受けている対象は、例えば、対象が別の療法からの副作用または有害影響を経験する場合、ベラグルセラゼによる治療に移行することができる。例えば、イミグルセラゼによるゴーシェ病の治療を受けている対象は、ベラグルセラゼによる治療に移行することができる、例えば、ベラグルセラゼは、イミグルセラゼを投与した時と同じ用量および同じ頻度で投与することができる。例えば、対象は、イミグルセラゼの投与時もしくは投与後に注入部位反応が認められ得る、および／または抗イミグルセラゼ抗体（例えば、イミグルセラゼに対する中和抗体）を生成し得る。

40

【0206】

50

併用療法

ゴーシェ病を有する対象は、全治療効果を提供するために一定量および一定時間、ベラグルセラゼを含む療法を実施することができる。ベラグルセラゼは、単独で、またはさらなる薬剤と併用して投与することができる。併用療法の場合、投与の量および時間は、例えば、相乗的治療効果、または相加的治療効果を提供するものであり得る。

【0207】

いくつかの実施形態では、ベラグルセラゼは、ゴーシェ病の別の療法、例えば、酵素補充療法以外の療法、例えば、イソファゴミンの酒石酸塩、ミグルスタット、または Genz 112638 と併用して、使用することができる。

【0208】

イソファゴミンの酒石酸塩イソファゴミンの酒石酸塩 (AT-2101、HGT-34100、PLICERA (登録商標)) ((3R, 4R, 5R)-3, 4-ジヒドロキシ-5-(ヒドロキシメチル)ピペラジンL-(+)-酒石酸塩; CAS 番号 957230-65-8) は、グルコセレブロシダーゼに選択的に結合し、安定し、グルコセレブロシドを分解するのに必要である細胞中の部分のリソソームへの酵素の適切な輸送を促進する。米国特許第 7, 501, 439 号も参照のこと。

【0209】

ミグルスタットミグルスタット (ZAVESCA (登録商標)) ((2R, 3R, 4R, 5S)-1-ブチル-2-(ヒドロキシメチル)ピペリジン-3, 4, 5-トリオール; CAS 番号 72599-27-0) は、D-グルコースと苦味のある白色からオフホワイト色の結晶性固体の合成類似体のNアルキル化イミノ糖である。ミグルスタットは、大量の分配を示し、脳、骨、および肺等の深部器官にアクセスする能力を有する。

【0210】

ミグルスタットは、ほとんどのスフィンゴ糖脂質の合成のための必須酵素であるグルコシルセラミドシンターゼを示す。ミグルスタットは、グルコシルセラミド合成阻害剤である。体内のある種の化学物質の形成を減少させる酵素 (グルコシルセラミドベースのスフィンゴ糖脂質) を遮断することによって作用する。ミグルスタットを使用して、軽度から中度の1型ゴーシェ病を治療する。

【0211】

Genz 112638 Genz 112638 は、経口で投与されるグルコシルセラミド類似体であり、グルコシルセラミド合成を部分的に阻害するように設計され、グルコシルセラミドの産生の減少をもたらす。

【0212】

加えて、薬理的シャペロンと称される小分子は、標的巨大分子に選択的に結合し、その安定を増加させるために使用することができる。例えば、薬理的シャペロンの結合は、タンパク質 (例えば、GCB) 等の標的分子、または他の巨大分子 (例えば、グルコセレブロシド) を、その正確な三次元形状に畳むのを助長することができる。これにより、分子の活性および細胞機能 (例えば、GCB の場合の酵素活性) を促進することができる。加えて、または代替として、薬理的シャペロンは、ER から細胞内の適切な位置までのシャペロン化分子の輸送を促進することができる。これらの機能のうちの1つまたはその両方は、細胞上の応力を減少させることができる。

【0213】

薬理的シャペロンはまた、ミスフォールドした巨大分子の凝集および/または蓄積を減少させることができる。加えて、ミスフォールドした巨大分子 (例えば、タンパク質) の輸送の復元および酵素補充のそれらの保持の減少は、変異の巨大分子の蓄積および/または凝集と関連する毒性効果 (例えば、タンパク質毒性効果) を軽減するさらなる利点を有し得る。

【0214】

ある実施形態では、併用療法は、1つ、2つ、またはそれ以上のグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法を含み、任意に、イソファゴミンの酒石酸塩、ミグルスタット、もしくは

10

20

30

40

50

Genz 112638等の1つ以上の小分子療法、ならびに／または1つ以上の薬理学的シャペロンおよび／もしくは他の薬剤と併用し得る。

【0215】

いくつかの実施形態では、ベラグルセラゼが、追加の薬剤と併用して投与される場合、この併用は、副作用を減少させるように、必要とされる追加の薬剤またはベラグルセラゼのさらなる低量化をもたらし得る。この併用は、1つまたは両方の薬剤の強化された送達および有効性をもたらし得る。

【0216】

薬剤または療法は、同時に（例えば、患者に投与される単一の製剤として、または同時に投与される2つの別々の製剤として）、または任意の順序で順次投与することができる。順次投与は、異なる時間に与えられる投与である。ある薬剤と別の薬剤の投与間隔は、分、時間、日、または週であり得る。ベラグルセラゼの使用はまた、別の療法の投与量を減少させる、例えば、投与される別の薬剤に関連する副作用を減少させる、例えば、酵素補充療法以外の療法の副作用を減少させるために、使用することもできる。したがって、併用は、ベラグルセラゼがない場合に使用されるよりも少なくとも10、20、30、または50%低い投与量で、第2の薬剤を投与することを含み得る。

【0217】

併用療法は、他の療法の副作用を減少させる薬剤を投与することを含み得る。例えば、コルチコステロイドは、注入部位反応を軽減させるために、ゴーシェ病のための治療を実施する前に、対象に投与することができる。別例として、鉄分補給療法を、ベラグルセラゼ療法中に行うことができる。

【0218】

ゴーシェ病

ゴーシェ病は、最も一般的なリソソーム貯蔵疾患である。これは、酵素グルコセレブロシダーゼ（酸 β -グルコシダーゼとも称される）の遺伝的欠損によって引き起こされる。酵素は、脂肪性物質のグルコセレブロシド（グルコシルセラミドとしても知られている）に作用する。酵素に障害がある場合、この物質は、特に、単核細胞血統の細胞中に蓄積する。脂肪質は、脾臓、肝臓、腎臓、肺、脳、および骨髄に収集することができる。症状には、拡大した脾臓および肝臓、肝機能不全、痛みを伴い得る骨障害および骨病変、重度の神経学的合併症、リンパ節および（時々）隣接関節の腫れ、膨張した腹部、茶色がかった色の皮膚、貧血、低血小板、ならびに眼の白目（強膜）の黄色脂肪性沈着が含まれ得る。最も重篤に影響を受けた者はまた、感染症により感染し易い場合もある。疾患は、第1染色体の劣性遺伝子によって引き起こされ、男性および女性の両者に影響を及ぼす。

【0219】

ゴーシェ病は、3つの一般的な臨床的サブタイプがある。

【0220】

I型（または非神経障害型）は、この疾患の最も一般的な型であり、出生児50,000人当たり約1人に生じる。アシュケナージ系ユダヤ人に最も頻繁に生じる。症状は、若年期に発病し、肥大肝および肉眼的に肥大した脾臓（肝脾腫大症を伴う）を含み得；脾臓は、破裂する可能性があり、さらなる合併症を引き起こし得る。骨格の衰弱および骨疾患は、広範囲に及び得る。脾腫大および骨髄置換は、貧血、血小板減少症、および白血球減少症を引き起こす。脳は影響を受けないが、肺、稀に、腎障害が起こり得る。この群の患者は、通常、あざができやすく（低レベルの血小板により）、赤血球の量が少ないため、疲労を経験する。発病開始および重篤度により異なるが、I型の患者は、成人期まで生存し得る。多くの患者は、疾患の軽症型を有するか、またはいかなる症状も示し得ない。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法および組成物を使用して、I型ゴーシェ病を治療する。

【0221】

II型（または急性幼児神経障害性ゴーシェ病）は、一般的には、生後6ヶ月以内に発病し、出生児100,000人当たり約1人の発生率である。症状には、肥大した肝臓お

10

20

30

40

50

よび脾臓、広汎性かつ進行性脳障害、眼球運動障害、痙性、発作、四肢硬直、および吸い込み、飲み込み能力の低下を含み得る。病気に冒された子供は、通常、2歳までに死亡する。

【0222】

III型（慢性神経障害型）は、小児期のいかなる時期または成人期でさえ発病し、出生児100,000人当たり約1人に生じる。急性または2型のゴーシェ病と比較して、徐々に進行するが、軽度の神経障害の症状を特徴とする。主要な症状には、肥大した脾臓および／または肝臓、発作、協調運動不全、骨格異常、眼球運動障害、貧血および呼吸困難を含む血液疾患が含まれる。患者は、多くの場合、10代前半および成人期まで生存する。

10

【0223】

骨塩密度

本明細書で使用される骨密度（または骨塩密度）とは、骨の平方センチメートル当たりの物質量を指す。骨密度は、骨粗しょう症および／または骨折の危険の間接的な指標として臨床医学に使用され得る。BMDは、例えば、二重エネルギーX線吸収法（DXAまたはDEXA）、定量的コンピュータ断層撮影法（QCT）、定性的超音波（QUS）、単一光子吸収法（SPA）、二重光子吸収法（DPA）、デジタルX線画像測定法（DXR）、および単一エネルギーX線吸収法（SEXA）等の多くの手法によって測定することができる。測定は、例えば、腰椎、臀部の上部、または前腕にわたって成され得る。

【0224】

平均骨塩密度は、 $BMC/W [g/cm^2]$ （ここで、 BMC ＝骨塩量＝ g/cm 、 W ＝スキャンした線幅）として定義することができる。

20

【0225】

デンスitrometryの結果は、例えば、 g/cm^3 の測定密度、Zスコア、およびTスコアにおいて報告することができる。負のスコアは、骨密度が低いことを示し、正のスコアは、骨密度が高いことを示す。

【0226】

Zスコアとは、患者の年齢、性別、および民族の平均を超えるまたは下回る標準偏差数を指す。

【0227】

Tスコアとは、患者と同じ性別および民族性の健常な30歳の成人の平均を超えるまたは下回る標準偏差数を指す。世界保健機関の標準は、

30

- ・正常は、Tスコアが-1.0以上である。
- ・骨減少症は、-2.5以上-1.0未満として定義される。
- ・骨粗しょう症は、-2.5以下として定義され、これは、30歳女性の平均を標準偏差の2.5倍下回る骨密度を意味する。

【0228】

投与

本明細書に記載のグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法は、例えば、静脈内、動脈内、皮下（subdermally）、腹腔内、筋肉、または皮下（subcutaneously）に投与することができる。好ましくは、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法は、約10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、または80U/kgの範囲の投与量で、または特定の化合物の必要条件に従って、静脈内に隔週投与される。本明細書の方法は、所望のまたは規定した効果を達成するために、有効量の化合物または化合物組成物の投与を企図する。一般には、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法は、持続注入、例えば、60分間、90分間、120分間、または150分間にわたる持続注入として投与することができる。単一の剤形を生成するために担体物質と合わせられ得る活性成分の量は、処置した宿主および特定の投与様式によって異なる。一般的な調製物は、5%～95%の活性化合物（w/w）を含有する。代替として、かかる調製物は、20%～80%の活性化合物を含有する。

40

50

【0229】

上記の列挙したものよりも低用量または高用量が必要とされ得る。任意の特定の対象に対する特定の投与量および治療計画は、例えば、使用される特定の化合物の活性、年齢、体重、全般的な健康状態、性別、食事、投与時間、排泄速度、薬物の組み合わせ、疾患、状態、もしくは症状の重篤度および経過、疾患、状態、もしくは症状に対する対象の意向、および処置する医師の判断を含む、種々の要因により異なる。

【0230】

対象の状態が改善されると、本発明の化合物、組成物、またはその組み合わせの維持量が、必要に応じて投与され得る。その後、投与の投与量または頻度、またはその両方は、症状と相関するものとして、改善された状態を保持するレベルまで軽減され得る。しかしながら、対象は、疾患のあらゆる症状が再発すると、長期標準の間欠的治療が必要となり得る。

10

【0231】

本発明の化合物、組成物、またはその組み合わせは、在宅療法（例えば、対象の自宅、職場、または他の非臨床的（例えば、非病院）環境における）として投与され得る。これは、医療専門家（例えば、看護婦または医師助手）によって投与（例えば、注入による）され得る。例えば、対象が、例えば、本化合物、組成物、またはその組み合わせの1回、2回、または3回の投与（例えば、注入による）後に有害事象（A E）（例えば、薬物関連の重篤なA Eまたは注入関連のA E、例えば、本明細書に記載の事象）が認められなかった場合、この対象は、その後の投与に対して在宅療法を受けることができる。

20

【0232】

薬学的組成物

グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、ベラグルセラゼ）は、対象への投与のための薬学的組成物に組み込むことができる。かかる組成物は、典型的には、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、ベラグルセラゼ）および薬学的に許容される担体を含む。

【0233】

本明細書で使用される、「薬学的に許容される担体またはアジュバント」という言語は、薬学的投与と互換性のある溶媒、分散媒、コーティング、抗菌および抗真菌性薬剤、等張および吸収遅延剤等が含まれる。補助活性化合物もまた、本組成物に組み込まれ得る。

30

「薬学的に許容される担体またはアジュバント」という用語は、グルコセレブロシダーゼと一緒に、対象に投与され得、その薬理学的活性を破壊せず、治療量のグルコセレブロシダーゼを送達するのに十分な用量で投与される場合、非毒性である、担体またはアジュバントを指す。

【0234】

薬学的組成物は、その投与の意図される経路に適合するように配合される。投与の経路の例には、非経口、例えば、静脈内、皮内、および皮下が含まれる。非経口、皮内、または皮下の適用のために使用される溶液または懸濁液は、以下の成分が含まれ得る：注射用の水等の滅菌希釈液、食塩溶液、固定油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール、または他の合成溶媒；ベンジルアルコールもしくはメチルパラベン等の抗菌剤；アスコルビン酸もしくは重亜硫酸ナトリウム等の酸化防止剤；エチレンジアミンテトラ酢酸等のキレート剤；酢酸塩、クエン酸塩もしくはリン酸塩等の緩衝液、および塩化ナトリウムもしくはデキストロース等の等張性の調整のための薬剤。塩酸または水酸化ナトリウム等の酸または塩基によってpHを調整し得る。非経口調製物は、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨て注射器、または複数用量バイアル中に封入され得る。

40

【0235】

静脈内投与に対して、好適な担体には、注射用滅菌水、生理用食塩水、静菌水、CREMOPHOR EL（商標）（BASF, Parsippany, NJ）、またはリン酸緩衝食塩水（PBS）が含まれる。全ての場合において、本組成物は、滅菌されるべきで

50

あり、また注射可能である程度に流動性であるべきである。それは、製造および貯蔵の条件下で安定であるべきであり、バクテリアおよび真菌等の微生物の汚染作用に対して保存される必要がある。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、ポリピレングリコール、および液体ポリエチレングリコール等）、およびその好適な混合物を含有する、溶媒または分散媒であり得る。適切な流動性は、例えば、レシチン等のコーティングの使用、分散の場合には必要とされる粒子の大きさの維持、および界面活性剤の使用等によって維持され得る。微生物作用の防止は、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサル等種の抗バクテリアおよび抗真菌剤によって達成することができる。多くの場合、組成物中に、例えば、スクロース等の糖、マンニトール等の多価アルコール、ソルビトール、塩化ナトリウム等の等張性の薬剤を含むことが好ましい。注射可能な組成物の持続性の吸収は、例えば、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチン等の吸収を遅らせる薬剤を組成物中に含ませることによってもたらされ得る。

10

【0236】

薬学的組成物には、例えば、注射用滅菌水、スクロース、クエン酸ナトリウム、クエン酸、およびポリソルベートが含まれ得る。

【0237】

滅菌注射可能溶液は、必要に応じて、上に挙げた成分の1つまたは組み合わせを有する適切な溶媒中に必要量のグルコセレブロシダーゼを取り込み、続いて、フィルタ滅菌することによって調製することができる。概して、分散物は、基本の分散媒および上に挙げたうちの必要な他の成分を含有する滅菌賦形剤に活性化合物を組み込むことによって調製される。滅菌注射可能溶液の調製のための滅菌粉末の場合には、調製の好ましい方法は、真空乾燥およびフリーズドライであり、これは予め滅菌フィルタ処理された溶液から、活性成分とあらゆる付加的な所望の成分との粉末を得るものである。

20

【0238】

投与の簡便性および投与量の均一性のために、投与量単位形の非経口組成物を配合することが有利である。本明細書で使用される投与量単位形とは、処置される対象に対する単位投与量として好適な物理的に別個の単位を指し、各単位は、必要とされる薬学的担体に関連して所望の治療効果をもたらすように算出された予め定められた量の活性化合物を含有する。

30

【0239】

薬学的組成物は、容器、パック、またはディスペンサ中に、投与のための取扱説明書とともに含まれ得る。

【0240】

キット

グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、ベラグルセラゼ）を、キットに提供することができる。キットには、（a）グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法、例えば、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法を含む組成物、および（b）情報資料が含まれる。情報資料は、説明的、教示的、販売のための資料、または本明細書に記載の方法、および／または本明細書に記載の方法のためのグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法の使用に関する他の資料であり得る。例えば、情報資料は、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法を実施して、ゴーシェ病を治療するための方法を説明する。

40

【0241】

一実施形態では、情報資料は、好適な方法で、例えば、好適な用量、剤形、または投与様式（例えば、本明細書に記載の、用量、剤形、または投与の様式）で、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法を実施するための取扱説明書を含むことができる。別の実施形態では、情報資料は、好適な対象、例えば、ヒトを特定するための取扱説明書を含むことができる。キットの情報資料は、その形態において限定されない。多くの場合、情報資料、例えば、取扱説明書は、印刷物、例えば、印刷した教本、図、および／または写真、例えば、ラベルもしくは印刷シートが提供される。しかしながら、情報資料は、点字、コンピュ

50

ータ可読の資料、ビデオ録画、または音声録音等の他の形式で提供することもできる。別の実施形態では、キットの情報資料は、リンク情報または連絡先、例えば、物理アドレス、電子メールアドレス、ハイパーリンク、ウェブサイト、または電話番号であり、キットのユーザは、本明細書に記載の、モジュールおよび方法におけるその使用についての実質的な情報を得ることができる。もちろん、情報資料はまた、フォーマットのいかなる組み合わせにおいても提供され得る。

【0242】

グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法に加えて、キットの組成物は、溶媒もしくは緩衝液、および／または安定剤もしくは防腐剤、および／またはゴーシェ病を治療するための第2の薬剤等の他の材料も含み得る。代替として、他の材料は、キット内に含まれるが、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法とは異なる組成物または容器内に含むことができる。かかる実施形態では、キットは、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法と他の材料（例えば、凍結乾燥療法を再構成するおよび／または投与前に再構成した療法を希釈するための）を混合するための、または他の材料と一緒にグルコセレブロシダーゼ酵素補充療法を使用するための取扱説明書を含むことができる。

10

【0243】

グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法は、いかなる形態、例えば、液体、乾燥、または凍結乾燥形態でも提供することができる。グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法は、実質的に純粋なおよび／または滅菌であることが好ましい。グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法は、液体溶液中で提供され、好ましくは、この液体溶液は、水性溶液、好ましくは、滅菌水性溶液である。グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法が、乾燥形態として提供される場合、再構成は、一般的に、好適な溶媒を添加することによるものである。溶媒、例えば、滅菌水または緩衝液は、任意に、キット内に提供され得る。

20

【0244】

キットには、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法を含有する組成物のための1つ以上の容器を含むことができる。いくつかの実施形態では、キットは、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、組成物中の）および情報資料のための別個の容器、仕切り、または区画を含む。例えば、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、組成物中の）は、瓶、バイアル、または注射器に含まれ得、情報資料は、プラスチック製のスリーブまたは小包に含まれ得る。他の実施形態では、キットの別個の成分は、単一の分割されていない容器中に含まれる。例えば、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、組成物中の）は、瓶、バイアル、または注射器に含まれ、それにラベル状の情報資料が添付されている。いくつかの実施形態では、キットは、複数の（例えば、一パックの）個々の容器を含み、それぞれが、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、組成物中の）の1つ以上の単位剤形（例えば、本明細書に記載の剤形）を含む。例えば、キットは、複数の注射器、アンプル、ホイル小包、またはブリスターパックを含み、それぞれが、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法の単一の単位用量を含む。キットの容器は、気密および／または防水であってよい。

30

【0245】

グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法（例えば、組成物中の）は、ゴーシェ病に罹患する対象に実施することができる。本方法は、例えば、対象を、本明細書に記載のように評価し、それによって、グルコセレブロシダーゼ酵素補充療法による治療を必要とする対象を特定することを含むことができる。

40

【0246】

以下の実施例は、本発明の例示的な実施形態を提供する。当業者は、本発明の精神または範囲を変更することなく実施され得る多くの改変および変化を認識するであろう。このような改変および変化は、本発明の範囲内に包含される。実施例は、いかなる様式でも本発明を限定しない。

【実施例】

【0247】

50

酵素療法の導入は、1型ゴーシェ病の自然史に多大な影響を与えている。残念なことに、単一の治療法の選択肢の存在は、1型ゴーシェ病に罹患する患者の治療において、固有の脆弱性を示す。イミグルセラゼでの治療を受けた患者のうちの約15%は、IgG抗体を発現することが報告されており、これらの患者の約半数は、過敏性の症状を報告した (Starzyk K et al., Molec Genet Metab. 2007; 90:157-163)。全体的に、ゴーシェ病の治療における単一の製品への依存は、最近のイミグルセラゼの不足によって強調されている (Steinbrook R et al., N Engl J Med. 2009; 361:1525-1527)。イミグルセラゼ注入を受けている者のうちで、未知数の患者が、可能性のある免疫介在性応答を軽減するために前投薬が必要とされる。場合によっては、患者は、ヒドロコルチゾンが必要とし、これは、それ自体が、AVNを含む医学的危険を伴う。さらに、最近公開されたデータは、イミグルセラゼにより治療されたGD1患者の59%が、治療の用量および持続時間にかかわらず、治療してから最低4年後でも、少なくとも1つの治療目標も達成できないことを示唆している (Weinreb N et al., Am J Hematol. 2008; 83:890-895)。

【0248】

ベラグルセラゼアルファは、それをイミグルセラゼと区別する独特の特性（野生型アミノ酸配列および高 α -マンノシル含有）を有する、新規の酵素補充療法（ERT）である。以下に提供される実施例のいくつかは、ベラグルセラゼアルファの安全性および有効性を評価するための臨床試験および継続試験を説明する。これらは、減用量および在宅療法を実行するためのERTを含む第1の臨床試験である。

【0249】

実施例1：TKT025およびTKT025EXTの試験

概要

本実施例は、ベラグルセラゼアルファの安全性および有効性を評価するために実施されるベラグルセラゼアルファ（TKT025）および進行中の継続（TKT025EXT）試験の、9ヶ月の第I/I相の非盲検の、単一中心試験であることを説明する。

【0250】

第I/I相試験の主目的は、1型（非神経障害型）ゴーシェ病（GD1）の症状を示す成人患者における、60U/kgの用量で、9ヶ月間、隔週静脈内投与されるベラグルセラゼアルファの安全性を評価することであった。本試験の第2の目的は、主要な疾患特徴のベラグルセラゼアルファの臨床活性を評価することであった (Barton NW et al., N Engl J Med. 1991; 324:1464-1470)。同様に、継続試験は、4つの疾患測定（ヘモグロビン濃度、血小板数、肝体積、および脾臓体積）のベラグルセラゼアルファの長期の安全性を評価し、ベラグルセラゼアルファの効果を評価するように設計された (Barton NW et al., N Engl J Med. 1991; 324:1464-1470)。

【0251】

1型ゴーシェ病に罹患し、無傷の脾臓を有する症状を示す12人の成人患者が、第I/I相試験中、ベラグルセラゼアルファ（60U/kg/注入）を受容した。当初は、13人の患者が、本試験に参加するためにスクリーニングされたが、1人の患者は、抗イミグルセラゼ抗体が存在するため、除外された。継続試験は、本試験を完了した患者に提案し、段階的な減量（30U/kg/注入まで）が行われた。11人の患者は、第I/I相を完了し、10人は、継続試験に入り、9人の患者が、39ヶ月間の延長に達した。薬物関連の重篤有害事象または使用中止はなく、抗体は観察されなかった。在宅療法は、延長中、無事に行われた。統計的に有意な改善（ $p < 0.004$ ）を、ヘモグロビン（それぞれ、+19.2%、+21.7%）、血小板数（それぞれ、+67.6%、+157.8%）、正規化した肝体積（それぞれ、-18.2%、-42.8%）、および正規化した脾臓体積（それぞれ、-49.5%、-79.3%）について、ベースラインから9ヶ月およびベースラインから48ヶ月の平均変化率において示した。これらの有意な臨

床変化および安全性のプロファイルにより、第ⅠⅠⅠ相試験を導き出し、1型ゴーシェ病の代替療法としてベラグルセラゼアルファの可能性を明らかにする。

【0252】

方法

第Ⅰ／ⅠⅠ相および継続試験が、単一のセンターにおいて実行された（Gaucher Clinic, Shaare Zedek Medical Center; Jerusalem, Israel）。

【0253】

患者：1型ゴーシェ病の症状を示し、1型ゴーシェ病に罹患することが酵素的に確認された成人患者をスクリーニングした。適格標準は、年齢が18歳以上の、無傷の脾臓、疾患関連の貧血（性別について、正常下限（LLN）を下回る少なくとも1g/dLのヘモグロビン値）、血小板減少症（LLNを下回る血小板数）、ならびに、B型肝炎およびC型肝炎抗原およびヒト免疫欠損ウイルスに対する陰性の結果を含んだ。患者が、酵素補充療法を受けたことがないか、あるいは登録する前から12ヶ月以内にイミグルセラゼを受けてなく、イミグルセラゼ抗体陰性である場合、適していた。患者は、登録する前の30日以内に、いかなる他の適応症のための治験中の療法を受けたことがあるか、あるいは医学的もしくは非医学的根拠のいずれかのためのプロトコルで適合できなかった場合も、除外された。

【0254】

調製および投与：ベラグルセラゼアルファは、凍結乾燥製品として、Shire HGTで供給され、2℃～8℃で出荷された。この製品は、防腐剤のっていない、注射用滅菌水で再構成された。ベラグルセラゼアルファの適切な量（体重に基づく）は、最終容量の100mLまで、生理食塩水と徐々に混合された。希釈されたベラグルセラゼアルファは、60分間（1.5mg/kg/時、1U/kg/分の最高速度）、0.2μmのフィルタを通して、静脈内投与された。

【0255】

第Ⅰ／ⅠⅠ相試験中、初めの3人の患者は、治験実施施設で、隔週スケジュールでベラグルセラゼアルファを受けた。用量増加は、この初めの3人の患者に対して行われ、それによって、投与は、15U/kgの初回投与から60U/kgの最終投与が達成されるまで、倍になった。7日間の観察期間後に、初めの15U/kg注入のみを受けた第2および3番目の患者は、それぞれ、第1および2番目の患者について完了した。第3番目の患者が、60U/kgの単一用量を受け、7日間観察されると、9人の追加の患者が登録され、合計20個の用量の60U/kgの注入を隔週で受けた。用量増加が行われた患者は、合計20回の注入の、60U/kgでの17回のさらなる注入のための隔週スケジュールを継続した。

【0256】

継続試験中、全ての患者は、隔週での60U/kg/注入を継続した。継続試験から約6～9ヶ月後、貧血、血小板減少症、肝腫大、および／または脾腫（Pastores GM et al., Semin Hematol. 2004; 41: 4-14）の改善のため、4つの治療目標のうち少なくとも2つを達成した患者は、3ヶ月間、隔週での45U/kg/注入に移行され、次いで、隔週での30U/kg/注入に移行された。治療目標の達成に基づいた、この減量の慣習性は、イミグルセラゼの患者における、酵素補充療法の個性化についての推奨に従うものである（Andersson HC et al., Genet Med. 2005; 7: 105-110）。

【0257】

加えて、イスラエルに在住する7人の患者は、継続相中、在宅療法に移行した。

【0258】

安全性評価：安全性は、有害事象（注入関連の反応を含む）、併用薬、注入前、注入中、注入後に行ったバイタルサインの隔週の評価によって、試験を通して評価された。さらなる安全性の評価は、ほぼ12週間ごとに行われ、治験実施施設での、健康診断、臨床検

10

20

30

40

50

査室試験（血液学、血液生化学検査、尿検査、および妊娠検査）、12リード線心電図、および心エコー図を含んだ。抗ベラグルセラゼアルファ抗体の存在の判定は、Shire HGTで、3ヶ月間隔で行われた。

【0259】

抗体アッセイ：全ての参加者を、有効な間接ELISA法を用いて、抗ベラグルセラゼアルファ抗体の循環についてスクリーニングした。マイクロウェルプレートを、ベラグルセラゼアルファで被覆し、洗浄し、ウシ血清アルブミンで遮断し、非特異的抗体結合を限定した。それらを、0.05%のTween 20を含有するリン酸緩衝生理食塩水中で、100倍に希釈した患者の血清試料で、37℃で60分間インキュベートした。マイクロウェルを洗浄し、次いで、適切な西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）で共役した二次抗体でインキュベートした。それらを、HRP抗体、アイソタイプ特異的共役体：1）ヤギ抗ヒトIgG Fc、2）ヤギ抗ヒトIgA α鎖、3）ヤギ抗ヒトIgM μ鎖、または4）ヤギ抗ヒトIgE ε鎖二次抗体を用いて、別々にプローブした。マイクロウェルを、最後に1回洗浄し、HRP発色基質の3, 3', 5, 5' テトラメチルベンジジンでインキュベートした。2Nの硫酸を添加することによって、反応を停止し、450 nm (A_{450}) における各ウェルの吸光度を、Molecular Devices SPECTRAmax Plus 384プレートリーダーおよびSOFTmax PROソフトウェアを用いて、定量化した。抗体陽性血清試料は、イミグルセラゼを受けている患者から得た。これらの患者の抗体は、ベラグルセラゼアルファと交差反応し、抗ベラグルセラゼ抗体のスクリーニングアッセイにおけるヒト陽性対照として使用した。したがって、これらの血清は、抗イミグルセラゼおよび抗ベラグルセラゼアルファの両方とも陽性であった。陰性および陽性のヒト血清対照は、全てのアッセイプレート内に含まれた。

【0260】

抗ベラグルセラゼアルファ抗体に対するロバストELISA抗体陽性カットポイント吸光度は、酵素補充療法を受けたことがないゴーシェ病患者の血清試料（N=108）の平均吸光度から確立した。ELISA吸光度データのパラメータ解析を、使用して、各抗体アイソタイプについて、抗体陽性の下限値（平均+1.645×標準偏差、1.645は、正規分布の95パーセンタイルであり、したがって、5%の偽陽性率を潜在的に受け入れる）を算出した（Mire-Sluis AR et al., J Immunol Methods, 2004; 289: 1-16）。酵素補充療法を受けたことがないゴーシェ病血清試料についてのELISAの A_{450} バックグラウンドは、抗ベラグルセラゼアルファ抗体アイソタイプアッセイにおいて、0.040であると算出した。ELISAの抗体陽性カットオフは、比が2.0超および A_{450} が0.040超として確立され、この比は、任意の時点で得られた患者試料の A_{450} を、第1の酵素補充療法の治療前のベースラインで得られた患者試料の A_{450} で割ったものである。ELISAの陽性カットオフを超えるいくつかの試料が、定量的放射性免疫沈降アッセイによって確認され、中和抗体について試験したが、確立したカットオフ標準を達成する試料はなかった（Mire-Sluis AR et al., J Immunol Methods, 2004; 289: 1-16）。

【0261】

臨床活性：ヘモグロビン濃度および血小板数の主要な有効性評価は、既定の3ヶ月間隔で評価された。肝臓体積および脾臓体積は、ベースライン、6ヶ月、および9ヶ月間（Hadassah-Hebrew University Medical Centerにて）、ならびに継続試験中の24、33、および45ヶ月間（MOR-MAR Imaging unitにて）で行われた定量的腹部MRI（同じモデルの装置上で）を用いて測定された。肝臓体積および脾臓体積は、患者の識別および定量的腹部MRIを行う順序を盲目にした放射線医師によって、試験終了時に評価された。キトトリオンダーゼおよびCCL18は、Academic Medical Center; Amsterdam, the Netherlandsで測定された。

【0262】

統計分析：包括解析集団でもある、安全性集団は、ベラグルセラゼアルファの少なくとも1回の注入（部分的または完全な）を受けている全ての登録された患者であり、全ての臨床活性で使用した。データ補完は使用しなかった。

【0263】

ヘモグロビン濃度、血小板数、肝臓体積、および脾臓体積の主要な臨床活性のパラメータについて、帰無仮説は、ベースライン値と試験終了時の値（9ヶ月間）、ならびにベースライン値と48ヶ月間の終了時の値との間の差異がないというものである。（すなわち、観察の各対のメンバー間の差異は、中央値0を有する。）比較は、5%の有意レベルで検定する両側仮説試験を用いて行われた。ベースラインと期間終了時の値の間の差異は、ウイルコクソンの符号順位検定を用いて分析された。ベースラインからの変化を算出し、ベースラインからの変化率は、記述統計量を用いて要約する。

10

【0264】

二次臨床活性パラメータについて、観察されたデータ、ベースラインからの変化、およびベースラインからの変化率は、平均値、標準誤差（SE）、および中央値を含む、来院によって要約された。正式な統計的検定は、これらのデータセットに適用されなかった。

【0265】

TKT025試験からの結果（9M、60U/kgのベラグルセラゼアルファ）

ベラグルセラゼアルファは、良好な耐容性を示し、抗体を形成した患者は、いなかった。血液学的パラメータおよび臓器体積における臨床的かつ統計的に有意な改善は、早ければ3～6ヶ月で観察された（表1）。

20

【表1】

表1 TKT025の臨床結果（N=12）

臨床活性 パラメータ	中央値 ベースライン値	ベースライン±標準偏差からの平均変化		
		3ヶ月目	6ヶ月目	9ヶ月目
ヘモグロビン濃度 (g/dL)	10.95	1.24 ± 0.90	1.92 ± 0.82	2.24 ± 0.89
血小板数(×10 ⁹ /L)	57.5	8.9 ± 11.20	23.4 ± 24.63	40.6 ± 30.68
肝臓(体重の割合(%))	4.43	該当せず	-0.67 ± 0.64	-0.79 ± 0.48
脾臓(体重の割合(%))	3.63	該当せず	-1.62 ± 0.67	-1.89 ± 0.75

30

【0266】

対象属性および性質：合計13人の患者をスクリーニングし、全てが本試験に参加することに同意したが、1人の患者（0004）は、イミグルセラゼ抗体のため、除外された。全ての患者が、登録する前の12ヶ月間において、いかなるゴーシェ病固有の療法にも曝露されなかったことがないという理由で、プロトコルに従ってこの時点では治療を受けたことがなかったが、かなり昔に、2人の患者（0008および0009）は、それぞれ、イミグルセラゼの3回の注入を受けたことがあり、1人の患者（0003）は、ミグスタットに曝露されたことがあり、2人の患者（0005および0007）は、ミグスタットとイミグルセラゼの両方に曝露されたことがあった。

40

【0267】

包括解析集団（表2）は、ベラグルセラゼアルファの少なくとも1回の用量を受けた12人の患者を含み、これらのうち、11人の患者（92%）は、第I/I I相試験を完了した（1人の患者の0006は、3回の注入を受けた後、家族の突然死の後、同意を取り下げた）。

【0268】

50

第Ⅰ／Ⅱ相試験の登録時、7人の患者（58％）が女性であり、平均年齢は、41.7（SD±17.3；範囲19～70）歳であり、平均体重は、59.6（SD±9.1；範囲50～73）kgであり、平均身長は、169（SD±8.0；範囲160～184）cmであった。2人の患者（16.7％）は、登録時、股関節の虚血壊死（AVN）があり、別の患者は、各足首に破壊的病変があった。表2は、ベースラインでの対象属性、遺伝子型、および臨床的特徴、ならびに第Ⅰ／Ⅱ相試験内で重要なデータ収集時点での各包括解析患者の臨床的所見を提供する。

【表2】

患者	年齢	性別	遺伝子型	ヘモグロビン g/dL					血小板、10 ⁹ /L					正規化した脾臓体積、正常倍数					正規化した肝臓体積、正常倍数				
				BL	6ヶ月	9ヶ月	24ヶ月	48ヶ月	BL	6ヶ月	9ヶ月	24ヶ月	48ヶ月	BL	6ヶ月	9ヶ月	24ヶ月	45ヶ月	BL	6ヶ月	9ヶ月	24ヶ月	45ヶ月
1	24	F	N370S/N370S	10.8	12.2	12.5	12.4	12.7	80	123	149	155	130	17.5	11.0	10.0	8.0	6.5	2.3	1.8	1.9	1.5	1.2
2	62	M	N370S/L44P	12.7	14.1	14.8	14.3	14.2	69	74	90	127	142	11.0	7.5	6.0	4.0	3.0	1.0	1.0	0.9	1.0	0.8
3	35	M	N370S/その他	13.5	15.7	16.5	15.7	16.0	48	95	128	140	151	17.5	8.0	6.5	・	・	2.2	1.6	1.7	1.3	1.2
5	35	F	N370S/N370S	10.6	11.7	12.0			52	68	72			32.5	23.0	24.5			1.7	1.8	1.6		
6	44	F	N370S/IVS2+1	10.9					56					16.0					2.1				
7	42	F	N370S/N370S	10.5	12.5	12.5	13.8	13.0	37	32	39	42	95	21.0	13.5	13.0	7.0	4.0	1.8	1.7	1.6	1.4	1.0
8	23	F	N370S/RecNc1	10.0	12.1	11.8	12.7	14.2	65	137	150	154	203	19.0	9.0	7.0	3.5	3.5	2.2	1.6	1.6	1.2	1.2
9	25	M	N370S/RecNc1	12.6	15.8	15.9	15.8	15.1	69	97	120	178	183	28.0	12.5	10.0	4.0	2.5	2.0	1.4	1.4	1.1	0.9
10	60	F	N370S/N370S	10.1	11.1	12.5	12.4	12.4	48	60	86	121	139	19.0	11.0	8.5	3.5	3.0	1.4	1.2	1.0	0.8	0.8
11	18	F	N370S/その他	11.0	13.8	13.6	13.6	12.6	59	98	110	122	130	15.0	9.0	8.0	5.0	3.5	1.4	1.1	1.0	1.1	0.8
12	69	M	N370S/N370S	13.5	14.4	14.1			59	65	99			13.0	9.0	7.5			1.0	1.0	1.0		
13	56	M	N370S/V394L	12.9	15.9	16.6	15.4	16.0	46	40	36	111	135	19.5	10.0	8.0	4.5	2.5	1.0	0.8	0.8	0.8	0.7

【0269】

第Ⅰ／Ⅱ相および継続試験中の、ベースラインで、および評価の選択時点での患者の対象属性および特徴には、コホートについての各臨床パラメータにおいて収集された最終値を含む。正規化肝臓体積および脾臓体積は、それぞれ、キログラム当たりの全体重の2.5％および0.2％として定義される（Pastores GM et al., Semin Hematol. 2004；41：4－14）。正常倍数は、観察された臓

10

20

30

40

50

器体積を正規化臓器体積で割ったものである。24ヶ月までに、全ての患者は、ヘモグロビン濃度の正規化を示したが、1人の患者を除く全ての患者は、 $100 \times 10^9 / L$ よりも大きい血小板数を示した。BL、ベースライン；Mo、ヶ月；M、男性；F、女性；* 脾臓体積は、技術上のアーチファクトのため、解釈不可能であった。

【0270】

肝臓および脾臓の磁気共鳴映像法（MRI）スキャンの結果は、盲検化され、バイアスを最小にするために1人の検閲者によって解釈された。PFT（肺機能検査）、大腿および腰椎のMRI、ならびに骨密度を含む他の臨床パラメータからのベースラインデータの収集もまた、試験を通して種々の時点で行われた。

【0271】

本試験は、用量増加相および持続用量相の2つの相から成った。用量増加相中、第1の患者を、登録し、 $15 U / kg$ のベラグルセラーゼアルファを静脈内（IV）投与し、次いで、安全性の評価を7日間行った。第1の患者について、安全性を確認した後、2人のさらなる患者を登録し、 $15 U / kg$ のベラグルセラーゼアルファを静脈内投与し、次いで、安全性の評価を7日間行った。 $15 U / kg$ の用量を受けた3人全ての患者について、安全性を確認した後、次の2つの高用量（30および60 U / kg ）を、同じ方法で投与した。3人全ての患者について、安全性を確認すると、さらなる9人の患者を登録し、60 U / kg の用量で投与した。次いで、全ての患者は、合計20回の用量のベラグルセラーゼアルファを、60 U / kg の用量を隔週受けた。

【0272】

ヒトにおける薬物動態（PK）は、TKT025において、1週目、3週目、5週目、および37/39週目に評価した。さらなるPK試験は、TKT025EXT試験の65週目に実行した。ベラグルセラーゼアルファは、各評価で、一次排泄動態を用いて、血中から急速に除去した。ベラグルセラーゼアルファに初期曝露した後、およびベラグルセラーゼアルファを反復投与した後での患者に対する排出半減期は、同様であった。対照的に、分布値のクリアランスおよび見かけ体積は、ベラグルセラーゼアルファの反復投与後に減少した。

【0273】

ヘモグロビン濃度および血小板数におけるベースラインからの統計的に有意な平均増加が、試験TKT025において、60 U / kg のベラグルセラーゼアルファの隔週投与を開始してから3ヶ月間観察された。TKT025において25週目（6ヶ月目）までに、ヘモグロビン濃度は、 $13.57 g / dL$ （正常範囲内）であり、試験の残留期間、正常範囲内で維持した。試験の終了時、11人のうち10人の患者が、ヘモグロビン濃度の正規化を経験した。平均血小板数において、ベースライン（ $57.3 \times 10^3 / mm^3$ ）からの統計的に有意な増加量は、13週目（3ヶ月目）まで観察され、試験を通して継続した。37週目に、平均血小板数は、 $98.1 \times 10^3 / mm^3$ まで増加した。

【0274】

さらに、平均および正規化された（体重の割合によって修正された）肝臓体積および脾臓体積におけるベースラインからの統計的に有意な減少が、ベラグルセラーゼアルファ治療を開始してから6ヶ月間（25週目）および9ヶ月間（37週目）、観察された。バイオマーカー値（血清キトトリオンダーゼおよびケモカイン（C-Cモチーフ）リガンド18 [CCL18]）の著しい減少が、3ヶ月目まで観察された。概して、これらのパラメータの全ての平均の改善は、ベラグルセラーゼアルファ投与の経過中、継続的であった。さらになお、各患者は、ゴーシェ病に固有の4つの治療パラメータ（例えば、ヘモグロビン濃度、血小板数、脾臓体積、および肝体積）のうち少なくとも2つの改善を経験した。

【0275】

簡潔に言えば、図1A～1Fは、第I/I相試験における、血液学的パラメータ、臓器体積、およびバイオマーカーの平均変化率を示す。（a）ヘモグロビン濃度および（b）血小板数の著しい増加は、（c）肝体積および（d）脾臓体積の著しい減少に伴って、25週目から37週目の間観察される。（e）キトトリオンダーゼおよび（f）CCL1

10

20

30

40

50

8 についてのバイオマーカーのサンプリングは、不完全であったが、ベースラインと比較した両方のバイオマーカーの一般的な減少が、経時的に患者ごとに観察される。統計的に有意な改善 ($p < 0.003$) は、ヘモグロビン濃度 (+21.7%)、血小板数 (+67.6%)、正規化した肝体積 (-18.2%)、および正規化した脾臓体積 (-49.5%) における、ベースラインから9ヶ月間の平均変化率で示され、ヘモグロビン濃度および血小板数の両方において、ベースラインからの統計的に有意な改善を伴って、初めの3ヶ月間で達成した (図2)。図2では、ヘモグロビン濃度、血小板数、肝体積、および脾臓体積の平均変化率が、第I/I I 相および継続試験の両方について、時間とともにプロットされ、画定される。ベースラインからの統計的に有意な変化は、各パラメータについて、ベースラインから9ヶ月間 ($p < 0.003$)、観察される。最も著しい変化は、血小板数および脾臓体積について観察された。

10

【0276】

TKT025では、12人の患者が、1つ以上のAE (有害事象) を経験し、全体で、103個の有害事象が報告された。2つの有害事象 (目まいおよび多汗症) が、15U/kgの用量中の1人の患者によって報告され、残りの101個の有害事象は、60U/kgの用量を受けている患者によって報告された。最も頻繁に報告された有害事象は、目まい、骨痛、および頭痛 (それぞれ、5人の患者、41.7%) であった。関節痛、背痛、手足の痛み、インフルエンザ、上腹部の痛み、および無力症は、それぞれ、3人の患者 (25%) に生じた。骨痛 (中度の (2級) 重篤度であり、治験薬とは関連のない) の1つの事象を除く全ての有害事象は、軽度 (1級) であった。103個の有害事象はどれも、重篤または生命にかかわる (3級または4級) と見なされるものがなかった。有害事象のため、試験から除外される患者はいなかった。

20

【0277】

TKT025中に観察された有害事象の大部分は、治験薬の投与とは関連がないことが治験責任医師によって判定された (表3A)。10人の患者は、治験薬に関連の可能性あり、または多分関連ありと見なされる22個の有害事象を経験し、最も一般的には、目まい (3人の患者) ; 背痛、骨痛、頭痛、体温の上昇、および嘔気 (それぞれ、2人の患者) であった。9人の患者は、合計17個の注入関連の有害事象を経験し、これらは、注入した日に生じ、注入中あるいは注入後のいずれかで開始し、治験薬に関連の可能性あり、または多分関連ありと判断される、有害事象として、プロトコルに定義された。これらの有害事象には、目まい、頭痛、背痛、骨痛、体温の上昇が含まれ、それぞれ、2人の患者に生じた。全ての注入関連の有害事象は、60U/kgの用量を受けている患者において報告された。1人の患者は、用量増加後、緩和を経験しなかったが、骨痛が悪化したため、減量した後、24ヶ月間、隔週で60U/kg/注入まで用量増加を行った。したがって、注入設定にもかかわらず、薬物関連の重篤有害事象はなかった。前投薬を実施せず、有害事象のため、投与を中止した患者はいなかった。ベラグルセラーゼアルファに対する抗体を形成した患者はいなかった。

30

【表 3 A】

表 3 A 第 I / I I 相試験 (TKT025) 中に観察される、ベラグルセラーゼアルファ (GAー GCB) の投与に関連の可能性あり、または多分関連ありと判定された治療中に発生した有害事象

系臓器クラスの好ましい用語	ベラグルセラーゼアルファ 60U/kg EOW n = 12 人の患者	
	患者、n (%)	事象、n (%)
任意の有害事象	10 (83.3)	22 (21.8)
神経系疾患		
目まい	3 (25.0)	4 (4.0)
頭痛	2 (16.7)	2 (2.0)
灼熱感	1 (8.3)	1 (1.0)
片頭痛	1 (8.3)	3 (3.0)
震え	1 (8.3)	1 (1.0)
胃腸障害		
嘔気	2 (16.7)	2 (2.0)
上腹部の痛み	1 (8.3)	1 (1.0)
筋骨格および結合組織系の障害		
背痛	2 (16.7)	2 (2.0)
骨痛	2 (16.7)	2 (2.0)
手足の痛み	1 (8.3)	1 (1.0)
全身性の障害および投与部位状態		
無力症	1 (8.3)	1 (1.0)
調査		
体温上昇	2 (16.7)	2 (2.0)

【0278】

患者の割合は、治療群の患者の総数に基づく。有害事象は、MedDRA Version 7.0 辞書を用いてコードされる。EOW：隔週。

【0279】

TKT025EXT（長期、30～60U/kgのベラグルセラーゼアルファ）からの結果

要約：TKT025EXTは、試験TKT025を完了した1型ゴーシェ病に罹患する患者における、ベラグルセラーゼアルファ療法の非盲検継続試験である。TKT025EXTの第1の目的は、30または60U/kgの用量で、合計4年間、隔週静脈投与した場合のベラグルセラーゼアルファの長期安全性を評価することである。第2の目的は、血液学的パラメータならびに肝体積および脾臓体積の減少について測定した場合、これらの患者の臨床活性におけるベラグルセラーゼアルファの効果を継続して評価することである。血漿キトトリオンシダーゼおよびCCL18、ならびにPFT、大腿骨頸および腰椎のMRI、骨検索、ならびに骨密度測定もまた、評価される。

【0280】

10人の患者が、本臨床試験に参加するように選ばれた。累積治療（TKT025+TKT025EXT）から60ヶ月後、ベラグルセラーゼアルファは、良好な耐容性を示し、抗体を形成した患者はいなかった。血液学的パラメータおよび臓器体積における、継続

し、持続した、臨床的かつ統計的に有意な改善が継続して見られた（表4）。図3は、ベラグルセラーゼアルファにより60ヶ月間治療した患者における、ベースラインからの平均ヘモグロビン濃度および血小板数の増加を示す。図4は、ベラグルセラーゼアルファにより60ヶ月間治療した患者における、ベースラインからの平均肝体積および脾臓体積の減少を示す。

【表4】

表4 TKT025EXTの臨床結果（N=10）

臨床活性 パラメータ	中央 ベースライ ン値	ベースラインからの平均変化 [95% 信頼区間]			
		24ヶ月目	36 ^a ヶ月目	48 ^a ヶ月目	60 ^a ヶ月目
ヘモグロビン 濃度 (g/dL)	10.90	2.30 [1.78, 2.82]	2.13 [1.59, 2.67]	2.31 [1.66, 2.96]	2.38 [1.60, 3.16]
血小板数 ($\times 10^9/L$)	55.5	66.5 [45.3, 87.7]	71.1 [53.6, 88.6]	82.3 [60.1, 104.5]	85.1 [59.8, 110.4]
肝臓(体重の割 合(%))	4.40	-1.29 [-1.91, -0.67]	-1.37 [-1.90, -0.84]	-1.74 [-2.40, -1.08]	-1.70 [-2.33, -1.07]
脾臓(体重の割 合(%))	3.80	-2.63 [-3.44, -1.83]	-2.69 [-3.51, -1.87]	-2.88 [-3.72, -2.03]	-2.89 [-3.72, -2.06]

a 臓器体積は、TKT025開始から33、45、および57ヶ月目に評価された。

【0281】

対象属性および性質：TKT025の41週目の評価が完了すると、患者は、TKT025EXTに参加することができた。試験TKT025を完了した11人の患者のうち、10人の患者は、試験TKT025EXTに登録した。1人の患者（0012）は、隔週の通院が不便であるため、継続試験の登録を承諾せず、1人の患者（0005）は、妊娠のため、継続試験を中止した。表2は、ベースラインでの対象属性、遺伝子型、および臨床的特徴、ならびに継続試験内で重要なデータ収集時点での各包括解析患者の臨床的所見を提供する。

【0282】

登録した全ての患者は、初めにベラグルセラーゼアルファの60U/kgを隔週で受けた。用量は、累積治療から1年後、血液学的パラメータ（ヘモグロビン濃度または血小板値）の改善および/または臓器体積（肝臓または脾臓）の改善があった患者に提供される30U/kgまで滴定した。TKT025EXTに初めに登録した10人全ての患者が、必要とされる減量基準を満たし、30U/kgの用量に移行された。

【0283】

TKT025EXTの9人全ての患者は、42ヶ月目まで利用可能なヘモグロビン濃度および血小板数データがあり、一方、3人の患者は、45ヶ月目まで利用可能なデータがあった。42ヶ月間で、前治療のベースラインからのヘモグロビンの平均（標準誤差 [SE]）の変化は、2.18 (0.25) g/dL ($p=0.004$) であり、前治療のベースラインからの平均変化率の19.0%に相当する。血小板数に関しては、前治療のベースラインからの平均（標準誤差）の変化は、42ヶ月目で、82.1 (8.4) $\times 10^3/mm^3$ ($p=0.004$) であり、前治療のベースラインからの平均変化率の149.8%に相当する。

【0284】

体重の割合に対して正規化した肝体積および脾臓体積は、33ヶ月目まで分析され、9

人全ての患者が、この評価について利用可能な肝臓データがあり、8人の患者が、利用可能な脾臓データがあった。33ヶ月目で、正規化した肝体積および脾臓体積における、前治療のベースラインからの平均（標準誤差）の変化は、それぞれ、 -1.5 (0.22) および -2.8 (0.37) であった。結果は、正規化した肝体積および脾臓体積の前治療のベースラインからの平均変化率の -34.0% および -73.5% に相当した（それぞれ、 $p=0.004$ および $p=0.008$ ）。さらなる改善もまた、血漿キトトリオンダーゼおよび CCL18 の両方のパラメータについて観察された。

【0285】

簡潔に言えば、図2は、ヘモグロビン濃度、血小板数、肝体積、および脾臓体積の平均変化率を示し、継続試験について、時間とともにプロットされ、画定される。統計的に有意な変化は、各パラメータについて、ベースラインから48ヶ月間 ($p<0.004$)、観察される。最も著しい変化は、血小板数および脾臓体積について観察された。ヘモグロビン値は、24ヶ月間、全ての患者について正規化した。肝体積は、正常に近づいた。これらの臨床的パラメータの継続的改善は、継続試験を通じて示され（図2）、ヘモグロビンの正規化は、24ヶ月間、全ての患者に観察された（表2）。ベースラインから48ヶ月間の平均変化率は、ヘモグロビン濃度 ($+21.7\%$)、血小板数 ($+157.8\%$)、肝体積 (-42.8%)、および脾臓体積 (-79.3%) について、統計的に有意であった ($p<0.004$)。

【0286】

ある特定日まで利用可能な試験TKT025EXTの安全性および臨床活性データが分析された。本試験に登録された患者は、43.2ヶ月間（範囲： $13.2\sim45.0$ ヶ月間）の曝露の累積平均持続時間があった。合計248個の有害事象が、登録した10人全ての患者の間で報告された。有害事象の大部分は、重篤度において、軽度から中度であった。治験責任医師によって治験薬とは関連がないと見なされる3つの重度（3級）有害事象が、2人の患者（1人の患者の関節痛および無菌性骨壊死、ならびに1人の患者の頭痛）について報告された。3つの重度有害事象が、報告されている（1人の患者の無菌性骨壊死の2つの事象、および1人の患者の瘢痕の1つの事象）。これらの重度有害事象のそれぞれは、治験責任医師によって治験薬とは関連がないと見なされ、それぞれは、続発症がなく消散した。最も頻繁に報告された治療中に発生した有害事象は、インフルエンザ（8人の患者、24個の事象）、関節痛（8人の患者、21個の事象）、頭痛（6人の患者、13個の事象）、背痛（6人の患者、10個の事象）、咽喉頭痛（5人の患者、7つの事象）、上腹部の痛み（5人の患者、7つの事象）、ならびに歯肉出血、発熱、および疲労（各4人の患者、4つの事象）であった。

【0287】

TKT025EXTにおいて報告された有害事象の大部分は、治験責任医師によって治験薬とは関連がないと見なされた（表3B）。合計7つの治療中に発生した有害事象は、鼻血（2人の患者、各1つの事象）、腹痛（1人の患者、1つの事象）、上腹部の痛み（1人の患者、1つの事象）、疲労（1人の患者、1つの事象）、および悪化した痛み（1人の患者、1つの事象）を含む、4人の患者において報告された。2人の患者は、それぞれ、1つの注入関連の有害事象：1人の患者の手足の中度（2級）の痛み、および1人の患者の軽度（1級）の震えを経験した。したがって、注入設定にもかかわらず、薬物関連の重篤有害事象はなかった。加えて、ベラグルセラーゼアルファの投与の中断を必要とする注入関連の有害事象がある患者はいなかった。

【0288】

ベラグルセラーゼアルファに対する抗体を形成した患者はいなかった。継続試験の1年目の間に、イスラエルの7人全ての居住者は、在宅療法への移行に成功した。

【0289】

表3B 継続試験（TKT025 EXT）中に観察される、ベラグルセラーゼアルファ（GA-GCB）の投与に関連する可能性あり、または多分関連ありと判定された治療中に発生した有害事象

系臓器クラスに好ましい用語	ベラグルセラーゼアルファ 30U/kg～60U/kg EOW	
	患者、n (%) N=10	事象、n (%) N=311
任意の関連有害事象	4 (40.0)	7 (2.8)
神経系疾患		
震え	1 (10.0)	1 (0.32)
呼吸器、胸部、または縦隔の障害		
鼻血	2 (20.0)	2 (0.6)
胃腸障害		
腹痛	2 (20.0)	2 (0.6)
筋骨格および結合組織系の障害		
手足の痛み	1 (10.0)	1 (0.3)
全身性の障害および投与部位状態		
疲労	1 (10.0)	1 (0.3)

10

20

患者の割合は、安全性集団の患者の総数に基づく。事象の割合は、安全性集団の患者によって経験された事象の総数に基づく。有害事象は、MedDRA Version 9.0 辞書を用いてコードされる。EOW：隔週。

【0290】

TKT025およびTKT025 EXTの1型ゴーシェ病患者における骨塩密度の結果

長期の骨塩密度（BMD）の変化は、ベラグルセラーゼアルファにより治療した1型ゴーシェ病患者において評価された。患者は、BMDにおいて、有意かつ継続的改善を示した。

30

【0291】

評価：TKT025登録中、骨検索および二重エネルギーX線吸収法（DEXA）を使用して、骨格病変を評価した。腰椎および大腿骨頸のZスコアは、本試験を通して、所定の時間で分析された。一部の患者については、DEXAスキャンが実施されたが、Zスコアは、スキャンから評価されなかった。欠損しているZスコアには、1人の患者－ベースラインおよび9ヶ月目での大腿骨頸；1人の患者－ベースラインでの腰椎；ならびに1人の患者－9ヶ月目での大腿骨頸が含まれる。腰椎および大腿骨頸のZスコアもまた、本試験を中止した後の2人の患者；24ヶ月目前の1人の患者および57ヶ月目前の1人の患者については評価しなかった。

40

【0292】

Tスコアを使用して、「若く、正常な」健常な30歳成人の骨密度を、ピーク骨密度と比較した。ベースラインおよび69ヶ月目での臨床的な骨状態は、 ≥ -1 は、正常、 > -2.5 および < -1 は、骨減少症、 ≤ -2.5 は、骨粗しょう症であるという、TスコアのWHO基準に従って特徴付けた。

【0293】

方法：

解析集団：一次解析は、長期の継続試験に参加するインフォームドコンセントに署名し、ベラグルセラーゼアルファの1回以上の総用量または部分的用量を受けた全ての患者と

50

して定義される、包括解析（ITT）集団（N＝10）において実行された。骨塩密度におけるベラグルセラーゼアルファの効果はまた、酵素補充療法と同時にビスホスフォネートを受けた、または受けなかった亜群においても評価された。

【0294】

統計的方法：欠損しているベースラインのZスコアは、次の値で置き換えた。最終観察の引き延ばし補完（LOCF）法を、その後の欠損しているZスコアに使用した。線形混合モデルを、反復測定解析として使用して、経時的にZスコアを解析した。Zスコア単位の年次増加を示す、y切片および勾配の推定値を示す。骨粗しょう症から骨減少症もしくは正常まで、および骨減少症から正常までの推移を記録し、報告した。

【0295】

結果：

ベースラインの特徴：TKT025EXTに登録した全ての患者は、GD1関連の骨病変があった。腰椎（LS）の骨病変の臨床状態は、1人の患者（10％）は、正常な範囲であり、8人の患者（80％）は、骨減少症に罹患し、1人の患者（10％）は、骨粗しょう症に罹患していた。大腿骨頸（FN）の骨病変の臨床状態は、1人の患者（10％）は、正常な範囲であり、5人の患者（50％）は、骨減少症に罹患し、4人の患者（40％）患者は、骨粗しょう症に罹患していた。DXA Zスコアは、（中央値〔範囲〕）：LSが-1.8 [-2.9～-0.4]、FNが-1.5 [-2.9～-0.2]であった。69ヶ月間を通して、平均ベラグルセラーゼアルファ用量は、40 U/kgであった。また、10人のうち4人の患者も、ビスホスフォネートにより治療された。

【0296】

Zスコア：ITT集団（n＝10）のベースラインおよび種々の時点でのZスコア、同時にビスホスフォネートを受けた患者、およびビスホスフォネートを受けなかった患者を、それぞれ、表5～7に示す。また、腰椎および大腿骨頸の平均Zスコアの経時変化も、それぞれ、図5および6に示す。

【表5】

表5 Zスコア、N＝10、ITT

時間	Zスコア	
	腰椎 平均 [95% 信頼区間]	大腿骨頸 平均 [95% 信頼区間]
ベースライン	-1.59 [-2.17, -1.01]	-1.46 [-2.11, -0.81]
9ヶ月目	-1.50 [-2.05, -0.95]	-1.39 [-2.06, -0.72]
24ヶ月目	-1.20 [-1.80, -0.60]	-1.23 [-2.04, -0.42]
33ヶ月目	-1.16 [-1.80, -0.52]	-1.07 [-1.82, -0.32]
45ヶ月目	-1.12 [-1.72, -0.52]	-1.14 [-1.86, -0.42]
57ヶ月目	-1.07 [-1.68, -0.46]	-1.10 [-1.89, -0.31]
69ヶ月目	-0.91 [-1.55, -0.27]	-1.06 [-1.83, -0.29]

【表 6】

表 6 Zスコア、n=4 [ビスホスフォネート受容]

時間	Zスコア	
	腰椎 平均 [95% 信頼区間]	大腿骨頸 平均 [95% 信頼区間]
ベースライン	-1.88 [-3.25, -0.50]	-1.70 [-3.13, -0.27]
9ヶ月目	-1.90 [-3.14, -0.66]	-1.68 [-3.15, -0.20]
24ヶ月目	-1.78 [-2.89, -0.66]	-1.75 [-3.52, 0.02]
33ヶ月目	-1.68 [-3.14, -0.21]	-1.45 [-3.19, 0.29]
45ヶ月目	-1.60 [-2.74, -0.46]	-1.48 [-3.23, 0.28]
57ヶ月目	-1.50 [-2.96, -0.04]	-1.40 [-3.25, 0.45]
69ヶ月目	-1.23 [-2.78, 0.33]	-1.48 [-3.22, 0.27]

10

【表 7】

表 7 Zスコア、n=6 [ビスホスフォネートなし]

時間	Zスコア	
	腰椎 平均 [95% 信頼区間]	大腿骨頸 平均 [95% 信頼区間]
ベースライン	-1.40 [-2.22, -0.58]	-1.30 [-2.30, -0.30]
9ヶ月目	-1.23 [-1.97, -0.50]	-1.20 [-2.22, -0.18]
24ヶ月目	-0.82 [-1.57, -0.06]	-0.88 [-2.03, 0.26]
33ヶ月目	-0.82 [-1.62, -0.02]	-0.82 [-1.91, 0.28]
45ヶ月目	-0.80 [-1.64, 0.04]	-0.92 [-1.95, 0.11]
57ヶ月目	-0.78 [-1.55, -0.01]	-0.90 [-2.07, 0.27]
69ヶ月目	-0.70 [-1.61, 0.21]	-0.78 [-1.91, 0.34]

20

30

【0297】

69ヶ月間のコース中の、ベースラインのZスコアからの腰椎（LS）および大腿骨頸（FN）のZスコアの変化を表8に示す。

40

【表 8】

表 8

予定した来院	ビスホスフォネート なし n=6	ビスホスフォネート* n=4	ITT 集団 N=10
	ベースラインの Z スコアからの腰椎の変化 (95% 信頼区間)		
9 ヶ月目	0.17 (-0.03, 0.36)	-0.03 (-0.18, 0.13)	0.09 (-0.04, 0.22)
24 ヶ月目	0.58 (0.08, 1.09)	0.10 (-0.27, 0.47)	0.39 (0.06, 0.72)
33 ヶ月目	0.58 (-0.06, 1.22)	0.20 (-0.14, 0.54)	0.43 (0.06, 0.80)
45 ヶ月目	0.60 (0.03, 1.17)	0.28 (-0.12, 0.67)	0.47 (0.14, 0.80)
57 ヶ月目	0.62 (0.05, 1.18)	0.38 (-0.04, 0.79)	0.52 (0.20, 0.84)
69 ヶ月目	0.70 (0.16, 1.24)	0.65 (-0.04, 1.34)	0.68 (0.35, 1.01)
	ベースラインの Z スコアからの大腿骨頸の変化 (95% 信頼区間)		
9 ヶ月目	0.10 (-0.03, 0.23)	0.03 (-0.18, 0.23)	0.07 (-0.02, 0.16)
24 ヶ月目	0.42 (-0.04, 0.87)	-0.05 (-0.47, 0.37)	0.23 (-0.08, 0.54)
33 ヶ月目	0.48 (0.10, 0.87)	0.25 (-0.13, 0.63)	0.39 (0.16, 0.62)
45 ヶ月目	0.38 (0.18, 0.59)	0.23 (-0.15, 0.60)	0.32 (0.17, 0.47)
57 ヶ月目	0.40 (0.06, 0.74)	0.30 (-0.20, 0.80)	0.36 (0.14, 0.58)
69 ヶ月目	0.52 (0.22, 0.81)	0.23 (-0.25, 0.70)	0.40 (0.18, 0.62)

ベースライン値に対して $P \leq 0.05$

【0298】

表 8 に示すように、包括解析集団の骨塩密度は、24 ヶ月目（腰椎：0.39 (0.06, 0.72)）および 33 ヶ月目（大腿骨頸：0.39 (0.16, 0.62)）までに有意に改善された。同時にビスホスフォネートを受けなかった患者の骨塩密度は、24 ヶ月目（腰椎：0.58 (0.08, 1.09)）および 33 ヶ月目（大腿骨頸：0.48 (0.10, 0.87)）までに有意に改善された。

【0299】

線形混合モデルの推定された Z スコア：Z スコア（ITT 集団、n=10、95% 信頼区間）は、参照集団の腰椎（y 切片=-1.56 [-2.09, -1.03]、 $P < 0.0001$ ）および大腿骨頸（y 切片=-1.42 [-2.06, -0.79]、 $P = 0.0007$ ）よりも有意に低かった。両方のパラメータは、経時的に有意に改善された（腰椎の勾配/月=+0.011 [0.005, 0.017]、 $P = 0.0021$ （勾配+0.011 Z スコア単位/月は、+0.132/年に相当する）、大腿骨頸の勾配/月=+0.007 [0.004, 0.009]、 $P = 0.0005$ （勾配+0.007 Z スコア単位/月は、+0.084/年に相当する））。

【0300】

ベラグルセラーゼアルファ（n=6、95% 信頼区間）のみを受けた患者のうち、Z スコアの腰椎の y 切片は、-1.29 [-1.97, -0.62]（ $P = 0.0045$ ）であり、大腿骨頸の y 切片は、-1.24 [-2.21, -0.27]（ $P = 0.0216$ ）であり、有意な改善が経時的に見られた〔腰椎の勾配/月=+0.013 [0.002, 0.024]（ $P = 0.028$ ）（+0.158/年に相当する）、大腿骨頸の勾配/月=+0.009 [0.004, 0.013]（ $P = 0.0055$ ）（+0.103/年に相当する）〕。

【0301】

同時にビスホスフォネートを受けた患者 ($n=4$ 、95% 信頼区間) のうちで、Zスコアの腰椎のy切片は、 $-1.97 [-3.06, -0.88]$ ($P=0.0104$) であり、大腿骨頸のy切片は、 $-1.71 [-3.02, -0.40]$ ($P=0.0252$) であり、改善が経時的に見られた〔腰椎の勾配/月 $=+0.009 [0.001, 0.017]$ ($P=0.0351$) ($+0.111$ /年に相当する)、大腿骨頸の勾配/月 $=+0.004 [-0.001, 0.010]$ ($P=0.0867$) ($+0.048$ /年に相当する)〕。

【0302】

観測データベースの解析 (International Collaborative Gaucher Group Gaucher Registry) に基づいた線形混合モデルでは、酵素補充療法のイミグルセラゼにより治療したGD1型患者は、追跡治療の開始時の参照集団よりも有意に低かった ($n=340$ 、Y切片 -1.17 、 $P<0.001$) (Wenstrup et al. J Bone Min Res. 2007; 22: 119-26)。しかしながら、用量反応の改善は、Zスコアの勾配/年 (15U/kg [$n=113$] : $+0.064$; 30U/kg [$n=116$] : $+0.086$; 60U/kg [$n=111$] : $+0.132$; 全ての $P<0.001$) において観察された (Wenstrup et al. J Bone Min Res. 2007; 22: 119-26)。

【0303】

ベースラインおよび69ヶ月間での骨塩密度の状態: ベースラインおよび69ヶ月目での臨床的な骨状態は、WHO基準 (正常=Tスコア ≥ -1 、骨減少症=Tスコア >-2.5 および <-1 、骨粗しょう症=Tスコア ≤ -2.5) を用いて特徴付けた。状態の変化は、同時にビスホスフォネートを用いずに、ベラグルセラゼアルファを受けた患者 ($n=6$) に観察された。69ヶ月目までに、2人の腰椎および大腿骨頸の骨減少症患者を正規化し、1人の大腿骨頸の骨粗しょう症患者は、骨減少症になった。ビスホスフォネートにおける4人全ての患者は、WHOカテゴリに変化がなかった。

【0304】

反復測定解析 (縦) 勾配の推定: 反復測定解析では、ITT集団 ($N=10$) についてのZスコアの推定値 [95% 信頼区間] は、腰椎の切片 $=-1.56 [-2.09, -1.03]$ 、 $P<0.0001$; 腰椎の勾配 (1ヶ月当たり) $=0.011 [0.005, 0.017]$ 、 $P=0.0021$; 大腿骨頸の切片 $=-1.42 [-2.06, -0.79]$ 、 $P=0.0007$; 腰椎の勾配 (1ヶ月当たり) $=0.007 [0.004, 0.009]$ 、 $P=0.0005$ であった。1ヶ月当たりの腰椎の勾配の0.011の増加は、1年当たり0.132の増加に相当し、1ヶ月当たりの大腿骨頸の勾配の0.007の増加は、1年当たり0.084の増加に相当する。

【0305】

ビスホスフォネートを受けなかった患者 ($N=6$) についてのZスコアの推定値 [95% 信頼区間] は、腰椎の切片 $=-1.29 [-1.97, -0.62]$ 、 $P=0.0045$; 腰椎の勾配 (1ヶ月当たり) $=0.013 [0.002, 0.024]$ 、 $P=0.0280$; 大腿骨頸の切片 $=-1.24 [-2.21, -0.27]$ 、 $P=0.0216$; 腰椎の勾配 (1ヶ月当たり) $=0.009 [0.004, 0.013]$ 、 $P=0.0055$ であった。1ヶ月当たりの腰椎の勾配の0.013の増加は、1年当たり0.158の増加に相当し、1ヶ月当たりの大腿骨頸の勾配の0.009の増加は、1年当たり0.103の増加に相当する。

【0306】

ビスホスフォネートを受けた患者 ($N=4$) についてのZスコアの推定値 [95% 信頼区間] は、腰椎の切片 $=-1.97 [-3.06, -0.88]$ 、 $P=0.0104$; 腰椎の勾配 (1ヶ月当たり) $=0.009 [0.001, 0.017]$ 、 $P=0.0351$; 大腿骨頸の切片 $=-1.71 [-3.02, -0.40]$ 、 $P=0.0252$; 腰椎

10

20

30

40

50

の勾配（1ヶ月当たり）＝0.004 [−0.001, 0.010]、 $P=0.0867$ であった。1ヶ月当たりの腰椎の勾配の0.009の増加は、1年当たり0.111の増加に相当し、1ヶ月当たりの大腿骨頸の勾配の0.004の増加は、1年当たり0.048の増加に相当する。

【0307】

統計的なモデルは、全ての利用可能なデータを使用し、データ補完のデータは使用しなかった。

【0308】

結論：ゴースェ病、およびベラグルセラーゼアルファにより治療したベースラインの骨減少症／骨粗しょう症に罹患する患者では、骨塩密度は、腰椎（24ヶ月目）および大腿骨頸（36ヶ月目）の両方において改善した。ベラグルセラーゼアルファ用量を、2年目の間に、60から30単位／kg／注入に減少させた場合、骨病変の改善は、継続的高用量療法に依存しなかった。

10

【0309】

長期の治療目標の達成

治療目標は、酵素補充療法を受けている1型ゴースェ病に罹患する患者における、治療応答の達成、維持、および継続をモニタリングするために説明されている（Pastores G et al., (2004) Seminars in Hematology, 41 (suppl 5): 4–14）。

【0310】

20

1型ゴースェ病の5つの重要な臨床的パラメータ（貧血、血小板減少症、肝腫大、脾腫、および骨格病変）の治療目標に対するベラグルセラーゼアルファ治療の影響をベンチマークするために、ベースラインでの貧血、血小板減少症、肝腫大、および脾腫についての目標での患者の割合を、4年間でのこれらの目標のそれぞれを達成する割合と比較した。ベースラインおよび4年間での貧血、血小板減少症、肝腫大、脾腫、および骨格病変についての完了データは、8人の患者（3人の男性、5人の女性）について利用可能である。4年間での骨格病変目標を達成する割合は、ベースラインから4年間のZスコアの改善に基づいて、判定された。加えて、4年間で、5つ全ての目標を達成した患者の割合を、ベースラインで、5つ全てのパラメータについての目標の割合と比較した。

【0311】

30

ベースラインで、全ての臨床的パラメータについて目標を達成した患者はいなかった（表9）。治療から1年後、全ての患者は、ベースラインで存在する目標を維持し、全ては、2つ以上の目標を達成した。8人全ての患者は、15～18ヶ月間、隔週でベラグルセラーゼアルファの30U／kgまでの段階的減量を開始した。治療から4年目までに、全ての患者は、5つ全ての臨床的パラメータについての目標を満たし、したがって、100%の達成が、5つの長期治療目標のそれぞれに見られた（表9）。

【表 9】

表 9

	ベースライン	4 年目
貧血	4/8 (50%)	8/8 (100%)
血小板減少症	0/8 (0%)	8/8 (100%)
肝腫大	4/8 (50%)	8/8 (100%)
脾腫	0/8 (0%)	8/8 (100%)
骨格病変	-----	8/8 (100%)
全て 5 つの目標	0/8 (0%)	8/8 (100%)

10

【0312】

骨格病変は、ベースラインと比較して4年目で、骨塩密度（BMD）の改善として測定

20

【0313】

このベラグルセラーゼアルファの第Ⅰ／Ⅱ相および継続試験では、それぞれの長期治療目標の臨床的に意味のある達成は、1年後に減量したにもかかわらず、各患者に観察された。これは、1型ゴーシェ病のための酵素補充療法を受けている全ての患者が、治療を開始してから4年以内に、これらの長期治療目標の5つ全てを達成した場合のコホートの第1の報告である。

【0314】

TKT025およびTKT025EXTからの結果の要約

本明細書に報告される所見は、ベラグルセラーゼアルファと関連する有害事象が、一般的に、重篤度において、軽度であり、療法とほとんど関連がないことを示す。治療中に発生した有害事象は、軽度から中度であり、ほとんど薬物関連ではなかった。抗体を形成したこれらの試験に登録した患者はなく、薬物関連の重篤有害事象は、注入設定または曝露の持続時間にかかわらず観察されず、有害事象のため、本試験を中止した患者はいなかった。試験部位での観察の初期後、適任の患者は、在宅ベースの、看護師により投与されるベラグルセラーゼアルファへの移行に成功した。

30

【0315】

ベラグルセラーゼアルファは、治療を始めてから初めの6ヶ月以内、そして試験および継続試験の経過を通して、観察されたベースラインからの統計的に有意かつ臨床的に意味のある改善とともに試験された4つの疾患パラメータの有効性を示した。療法の開始から24ヶ月以内に、全ての患者は、ヘモグロビン値の正規化を達成したが、1人を除く全ての患者は、 $100,000/mm^3$ 超の血小板数を達成し、全ての患者は、肝体積においてほぼ正規化を達成し、1人を除く全ての患者は、脾臓体積において、50%超の減少を示した。さらに、これらの改善は、減量相を含む、試験の持続時間を通して観察された。60U/kg/隔週の元の用量まで戻された唯一の患者は、15ヶ月で初期減量した後、骨痛に次いで39ヶ月でそうなった。この患者は、登録時に両足首に骨の破壊性病変があり（画像病変は、AVNを除外できなかった）、骨髓炎の病歴があった。主治験責任医師（AZ）は、先行する破壊性病変および先の病変に対して悪化する痛みに起因するものであり、減量または医療ミスとの関連の可能性はないと考えた。

40

【0316】

50

在宅治療への移行を含む観察される安全性のプロファイル、および減量にかかわらず、臨床的パラメータに観察される有意な変化は、ベラグルセラーゼアルファについてのさらなる3つの続く第III相試験（子供にも許容される）、ならびに世界規模の早期アクセスプログラム、およびFDAに認可される治療プロトコルをもたらす。

【0317】

実施例2：TKT032試験（12ヶ月、45または60U/kgのベラグルセラーゼアルファ）

実施例2.1：要約

本実施例は、1型ゴーシェ病における、ベラグルセラーゼアルファの有効性および安全性を評価するための、世界規模の多施設試験を説明する。25人の治療を受けたことがない貧血の1型ゴーシェ病患者（4～62歳）は、12ヶ月間、隔週で静脈内ベラグルセラーゼアルファの60U/kg（n=12）または45U/kg（n=13）に無作為化した。

【0318】

患者は、45U/kg（N=13）または60U/kg（N=12）のベラグルセラーゼアルファを受けるように、1：1の比率で無作為化された。層別因子には、年齢（2～17； ≥ 18 ）および性別（男性、女性）が含まれた。患者のベースライン特性を表10に列挙する。血液学的パラメータおよび脾臓体積における、臨床的かつ統計的に有意な改善が、12ヶ月間観察された（表11）。図7および8は、それぞれ、12ヶ月間、45U/kgまたは60U/kgのベラグルセラーゼアルファにより治療された患者のベースラインからの平均ヘモグロビン濃度および血小板数の増加を示す。図9および10は、それぞれ、12ヶ月間、45U/kgまたは60U/kgのベラグルセラーゼアルファにより治療された患者のベースラインからの正規化した平均脾臓体積および肝体積の減少を示す。

【表10】

表10 TKT032のベースライン特性

ベースライン因子	ベラグルセラーゼアルファ 45U/kg N = 13	ベラグルセラーゼアルファ 60U/kg N = 12	合計 N = 25
2～17歳 n (%)	3 (23.1)	4 (33.3)	7 (28.0)
2～4歳 n (%)	0	1 (8.3)	1 (4.0)
5～17歳 n (%)	3 (23.1)	3 (25.0)	6 (24.0)
18歳以上 n (%)	10 (76.9)	8 (66.7)	18 (72.0)
男性 n (%)	8 (61.5)	7 (58.3)	15 (60.0)
女性 n (%)	5 (38.5)	5 (41.7)	10 (40.0)
ヘモグロビン濃度 (g/dL) 中央値[最小、最大]	10.90 [8.45, 12.85]	10.83 [7.05, 12.25]	10.85 [7.05, 12.85]
血小板数 ($\times 10^9/L$) 中央値[最小、最大]	58.00 [13.0, 264.0]	66.75 [47.0, 438.0]	65.50 [13.0, 438.0]

【表 1 1】

表 1 1 T K T 0 3 2 の臨床結果 (N = 2 5)

	n	ベースライン 中央値	平均変化 ベースライン～12 ヶ月まで	95% 信頼区間	P 値
第 1 のエンドポイント					
ヘモグロビン 60U/kg	12	10.83	2.43	[1.72, 3.14]	< 0.0001
第 2 のエンドポイント					
ヘモグロビン 45U/kg	13	10.90	2.44	[1.49, 3.39]	0.0001
血小板 60U/kg	12	66.75	50.88	[23.97, 77.78]	0.0016
血小板 45U/kg	13	58.00	40.92	[11.20, 70.64]	0.0111
脾臓 60U/kg	12	2.80	-1.92	[-3.04, -0.79]	0.0032
脾臓 45U/kg	13	2.90	-1.87	[-3.17, -0.57]	0.0085
肝臓 60U/kg	12	3.65	-0.84	[-1.58, -0.11]	0.0282a
肝臓 45U/kg	13	3.50	-0.30	[-0.92, 0.32]	0.3149

a -多重検定に対する調整後、統計的に有意ではない。

【 0 3 1 9】

ベラグルセラーゼアルファは、良好な耐容性を示した。1 人の患者が、試験の終了（12 ヶ月間）時に、抗体を形成した。表 1 2 は、T K T 0 3 2 の安全性試験の結果を要約する。

【表 1 2】

表 1 2 T K T 0 3 2 の安全性

説明	患者 n(%)		
	ベラグルセラーゼ アルファ 45U/kg N = 13	ベラグルセラーゼ アルファ 60U/kg N = 12	合計 N = 25
有害事象を経験したことがない	2 (15.4)	0	2 (8.0)
少なくとも 1 つの有害事象を経験した	11 (84.6)	12 (100.0)	23 (92.0)
少なくとも 1 つの薬物関連の有害事象を経験した	9 (69.2)	6 (50.0)	15 (60.0)
少なくとも 1 つの注入関連の有害事象を経験した	8 (61.5)	6 (50.0)	14 (56.0)
少なくとも 1 つの重度または生命にかかわる有害事象を経験した	2 (15.4)	0	2 (8.0)
少なくとも 1 つの重篤有害事象を経験した	0	1 (8.3)	1 (4.0)
有害事象のため、中止	0	0	0
死亡	0	0	0
抗ベラグルセラーゼアルファ抗体を形成した	1 (7.7)	0	1 (4.0)

【 0 3 2 0】

12 ヶ月時点で、ヘモグロビン濃度は、増加した（60 U / k g : + 2 3 % ; + 2 . 4

g/dL [95% 信頼区間 (CI) : 1.5, 3.4; $P < 0.001$] ; 45 U/kg : +24% ; +2.4 g/dL [95% 信頼区間 : 1.5, 3.4; $P < 0.001$])、平均血小板数も増加した (60 U/kg : +65.9% ; $+51 \times 10^9 / L$ [95% 信頼区間 : 24, 78; $P = 0.002$] ; 45 U/kg : +66% ; $+41 \times 10^9 / L$ [95% 信頼区間 : 11, 71; $P = 0.01$])。平均脾臓体積は、減少し (60 U/kg : -50% [95% 信頼区間 : -62, -39%]、正常 [MN] の 14.0 ~ 5.8 倍 [$P = 0.003$] ; 45 U/kg : -40% [95% 信頼区間 : -52, -28%]、MN の 14.5 ~ 9.5 [$P = 0.009$])、平均肝体積も減少した (60 U/kg : -17% [95% 信頼区間 : -27, -7%]、MN の 1.5 ~ 1.2 [$P = 0.03$] ; 45 U/kg : -6% [95% 信頼区間 : -18, 6%]、MN の 1.4 ~ 1.2 [$P = 0.32$])。薬物関連の重篤有害事象または中止は観察されなかった。1 人の患者が、抗体を形成した。

10

【0321】

試験の目的

本試験の第 1 の目的は、ヘモグロビン濃度の増加で測定した場合、1 型ゴーシェ病に罹患する患者における、ベラグルセラーゼアルファを 60 U/kg の用量で隔週投与する有効性を判定することである。

【0322】

本試験の第 2 の目的は、ベラグルセラーゼアルファを 60 および 45 U/kg の用量で隔週投与する安全性を評価すること、ヘモグロビン濃度の増加で測定する場合、ベラグルセラーゼアルファを 45 U/kg の用量で隔週投与する有効性を評価すること、血小板数の増加、脾臓体積および肝体積の減少、ならびに血漿キトトリオシダーゼおよびケモカイン (C-C モチーフ) リガンド 18 (CCL18) のレベルの減少で評価することによって、ベラグルセラーゼアルファを 60 および 45 U/kg の用量で隔週投与する有効性を評価すること、全体の生活の質 (QoL) における、ベラグルセラーゼアルファを 60 および 45 U/kg の用量で隔週投与する有効性を評価すること、ならびに 60 および 45 U/kg の用量で投与した場合、ベラグルセラーゼアルファを隔週投与する単回および反復投与の薬物動態を評価することである。

20

【0323】

本試験の第 3 の目的は、ベラグルセラーゼアルファを 60 または 45 U/kg の用量で隔週投与した後、ヘモグロビン濃度の増加が、1 g/dL 以上であると定義して、ヘモグロビン応答を達成するベースラインからの時間を判定すること、18 歳以上の患者における、肺機能検査 (PFT) での、ベラグルセラーゼアルファを 60 および 45 U/kg の用量で隔週投与する有効性を評価することと、2 ~ 17 歳の患者における、発育速度およびタナー分類を評価すること、左手および手首の X 線撮影による、2 ~ 17 歳の患者における、骨年齢の変化を評価すること、腰椎および大腿骨頸の磁気共鳴映像法 (MRI) による、2 ~ 17 歳の患者における、骨疾患を評価するベースラインを確立すること、ならびに腰椎および大腿骨頸の DXA (冠状断撮像 (coronal imaging) を含む)、ならびに、血清アルカリ性ホスファターゼ、N-テロペプチド架橋 (NTx)、および C-テロペプチド架橋 (CTx) による、18 歳以上の患者のゴーシェ病関連の局所および全身性骨疾患における、ベラグルセラーゼアルファ療法の長期効果を評価するベースラインを確立することである。

30

40

【0324】

全体の試験設計

これは、1 型ゴーシェ病に罹患する患者のためのベラグルセラーゼアルファ療法の有効性および安全性を評価するように設計された、多施設第 III 相無作為化二重盲式の並列群の 2 用量試験である。

【0325】

本試験は、以下の通りの 5 つの相から構成された。(1) スクリーニング : -21 日目から -4 日目 ; ベースライン : -3 日目から 0 日目 (第 1 の用量前) ; 治療相 : 1 週目 (

50

1日目；第1の用量）から51週目（合計26回の注入が、患者ごとに実施された）まで；試験終了の来院：53週目；追跡調査：最終注入から30日後（53週目の評価前に中断／中止する患者について、または本試験は完了したが、その後の長期臨床試験の登録に選出されない患者について）。

【0326】

スクリーニング時に、本試験に参加する書面によるインフォームドコンセントを提出した患者は、試験の適任性を判定するために、試験参加基準についての再調査が行われ、スクリーニング評価を受けた。特に、患者は、ヘモグロビン濃度を測定するための血液試料を提供した。年齢および性別による正常値の下限を下回る少なくとも1g/dLであるヘモグロビン濃度を有する患者のみが、ベースライン相へと継続するのに適していた。統計分析の目的のために、追加の血液試料は、ヘモグロビン濃度の評価のためのスクリーニング時に採血された。

10

【0327】

スクリーニング評価を完了した後、試験参加に適していた患者は、第1の用量前に、ベースラインの過程および評価（すなわち、-3日目から0日目）を受けた。患者のヘモグロビン濃度が、年齢および性別による正常値の下限を下回る少なくとも1g/dLであることを確認するために、患者は、ベースラインで血液試料を提供した。ヘモグロビン濃度を、分析し、報告した。スクリーニングおよびベースラインの両方で、年齢および性別による正常値の下限を下回る少なくとも1g/dLであるヘモグロビン濃度を有する患者のみが、無作為化に適していた。統計分析の目的のために、追加の血液試料が、ヘモグロビン濃度の評価のためのベースラインで収集された。さらなるベースラインの手順および評価を、初期投与を実施する前に行った。

20

【0328】

ベースラインの評価が完了し、適任性が確認された後、患者は、コンピュータ処理の無作為化スケジュールによって、60U/kgのベラグルセラゼアルファあるいは45U/kgのベラグルセラゼアルファを受けるように、1：1の比率で無作為化された。

【0329】

患者は、合計51週間、隔週1回、臨床施設で、合計26回の静脈注入の二重盲検試験の医薬を受けた。安全性および有効性の評価は、治療期間中、一定間隔で行われた。安全性および有効性の最終評価は、51週目および53週目の来院で行われた。

30

【0330】

安全性は、有害事象（注入関連の有害事象を含む）、併用薬、およびバイタルサインの評価によって、本試験を通して評価された。12リード線心電図、健康診断、臨床検査室試験（血液学、血液生化学検査、および尿検査）を含む、さらなる安全性の評価は、13、25、37、および53週目に行われた。抗ベラグルセラゼアルファ抗体および酵素中和抗体の存在の判定は、53週目までほぼ6週間ごとに行った。

【0331】

有効性は、ヘモグロビン濃度および血小板数、肝体積および脾臓体積、ならびに血漿キトトリオシダーゼおよびCCl₁₈値によって評価された。さらなる有効性の評価には、発育速度およびタナー分類、QoL指標、骨格成長、ならびに肺機能検査が含まれる。

40

【0332】

単回投与および反復投与のベラグルセラゼアルファの薬物動態プロファイルもまた、本試験中に評価された。血液試料は、それぞれ、これらの分析のために、1週目（1日目）および37週目に収集された。

【0333】

本試験を完了した患者は、その後の長期臨床試験に登録する機会を与えられた。この長期試験の登録に選ばれた患者については、TKT032における、51週目および53週目の来院からのある種の評価は、ベースラインの評価として使用され、患者は、TKT032のために予定された53週目の手順が完了した後、53週目の来院時に、長期臨床試験のための第1のベラグルセラゼアルファ注入を受けた。したがって、それは、患者が

50

、2つの試験にわたって、継続的なベラグルセラーゼアルファ治療を受けることを意味した。本試験を完了したが、その後の長期試験の登録に選ばれなかった患者は、ベラグルセラーゼアルファの最後の注入から30日後、施設来院または電話による安全性の評価を得る。

【0334】

試験集団の選択

評価した39人の患者のうち、14人は、無作為化に適さなかった（12人は、試験対象患者基準を満たさず、2人は、除外基準を満たさなかった）。25人の参加者は、45 U/kg（n=13）または60 U/kg（n=12）の用量で、ベラグルセラーゼアルファに対して無作為化された。少なくとも1回の注入（または部分的な注入）を受けた全ての無作為化された患者は、包括解析（ITT）患者集団に含まれた。

10

【0335】

適格な参加者は、1型ゴーシェ病（白血球中の欠損グルコセレブロシダーゼ活性、または遺伝子型分析によって）、および疾患関連の貧血（年齢および性別による地域の検査室の正常値の下限を下回るヘモグロビン値 ≥ 1 g/dL）と診断された、2歳以上の男性または女性であった。参加者はまた、触診による少なくとも中度の脾腫（左肋骨縁から2～3 cm下）、疾患関連の血小板減少症（血小板数 $< 90 \times 10^3$ 血小板/mm³）、または容易に触診可能な肥大肝のうちの1つ以上があった。参加者は、試験に参加する前の30ヶ月以内にゴーシェ病の治療を受けることができなかった。

20

【0336】

参加者は、脾摘を受けた場合、2型あるいは3型ゴーシェ病に罹患した（または罹患している疑いがあった）場合、抗体陽性があった、またはイミグルセラーゼに対してアナフィラキシー性ショックを経験したことがある場合、除外された。他の除外基準には、試験に参加する前の30日以内に、あらゆる非ゴーシェ病関連の治療薬またはデバイスによる治療；HIV、またはB型肝炎もしくはC型肝炎に対する陽性試験；悪化した貧血（ビタミンB12、葉酸、または鉄欠乏性関連）、または試験データに影響を及ぼし得るあらゆる有意な併存疾患が含まれた。妊娠または授乳中の女性は、除外され、出産する可能性がある女性は、常に、医学的に許容される避妊方法を用いることを必要とされた。

【0337】

試験治療

治療評価：患者は、51週間、隔週で、60 U/kgのベラグルセラーゼアルファ（12人の患者、26回の注入）、または51週間、隔週で、45 U/kgのベラグルセラーゼアルファ（12人の患者、26回の注入）を受けるように、1：1の比率で、無作為化された。

30

【0338】

無作為化：ベースラインの評価が完了し、適任性を確認した後、患者は、51週間、ベラグルセラーゼアルファの45 U/kgあるいは60 U/kgの隔週での注入を受けるように、コンピュータ処理された無作為化スケジュールによって、1：1の比率で、無作為化された。

【0339】

予後因子のバランスの追求は、第1の分析の統計的有効性という理由で小さな試験において重要であった。多くの予後因子（例えば、年齢および性別）にわたるこのバランスを達成するために、動的割当手法を使用した。動的無作為化の手順については、患者の割当は、問題になっている患者の層別因子の現行のバランスによって影響を受けた。本手法は、PocockおよびSimonによって示唆されるようなアプローチを使用し、ICH-9において提供された手引きと非常に一致した（Pocock et al. Biometrics. 1975； 31：105-115）。

40

【0340】

治療スケジュール：患者は、1週目に、第1の注入を受けた。全ての患者は、12ヶ月間（51週間）、隔週で治療され、したがって、合計26回のベラグルセラーゼアルファ

50

の注入を実施した。

【0341】

用量の算出：治験薬の実際の用量は、ベースラインでの患者の体重に基づいて算出された。先行の評価から13、25、または37週目に示された5%以上の体重の変化は、試験薬剤の用量を再度算出することを必要とした。

【0342】

ベラグルセラーゼアルファ投与：ベラグルセラーゼアルファは、60および45 U/kgの両方の用量レベルで、継続的な静脈内注入として投与された。全ての注入は、1時間の持続時間にわたって投与された。全ての注入は、4.3 mLの防腐剤の入っていない、注射用滅菌水中で再構成され、次いで、生理食塩水（0.9%の塩化ナトリウム）中で希釈し、100 mLの全体積を得た。治験薬注入は、その週のほぼ同日に行われたが、患者スケジューリングを促進するために、予定された日の14日（±3日）ごとに行われる場合がある。

10

【0343】

試験手順およびデータ収集方法

遺伝子型：全ての患者は、ゴーシェ病の遺伝子型および血漿キトトリオシダーゼの遺伝子型のために、スクリーニング時に、血液試料を提供した。

【0344】

病歴：スクリーニング時に、患者の完全な病歴を記録した。これには、体組織の再評価、現行および先行の医療手順の文書化、ならびに現行および先行の併用薬の使用の文書化、ならびに患者が、試験に参加する前の30ヶ月以内にゴーシェ病の治療を受けなかったという文書が含まれた。

20

【0345】

バイタルサイン：記録されたバイタルサインパラメータには、脈拍、血圧、呼吸速度、および体温が含まれた。以下のスケジュールにより、注入の来院時に、バイタルサインを記録するために追跡調査した。注入開始（注入を開始する前の10分以内）、注入中（30分（±5分））、注入後（注入が完了してから5分、30分（±5分）、および60分（±5分）以内）。スクリーニング時に、ベースラインおよび53週目のバイタルサインは、1回の時点でのみ収集された。

【0346】

30

健康診断：健康診断は、スクリーニング時、ベースライン時、ならびに試験13、25、37、および53週目に、実施された。健康診断には、全体的な様子、内分泌物、頭頸部、心臓血管、眼、腹部、耳、非尿生殖器、鼻、皮膚、喉、筋骨格、胸部および肺、ならびに神経系が含まれた。加えて、肝臓および脾臓の触診は、患者が、中度の脾腫（左肋骨縁から2～3 cm下）、およびゴーシェ病関連の肥大肝があることを確認するために、スクリーニング中、実施された。

【0347】

身長および体重：身長および体重は、ベースライン、ならびに試験13、25、37、および53週目に記録された。

【0348】

40

12リード線心電図：12リード線心電図は、ベースライン、ならびに試験13、25、37、および53週目に実施された。各12リード線心電図には、PR、QRS、QT、およびQTc間隔、ならびに心拍数の評価が含まれた。

【0349】

臨床検査室試験：血液および尿試料は、臨床検査室試験について以下に記載されるように収集した。全ての血液試料は、静脈穿刺によって収集した。

【0350】

血液学：血液試料は、完全血液学試験のために、スクリーニング時、ベースライン時、ならびに13、25、37、および53週目に収集された。以下の血液学パラメータは、差動による完全血球算定（CBC）、活性化部分トロンボプラスチン時間（aPTT）、

50

網状赤血球数（臨床施設の地域検査室によって分析され、報告された）、血小板数、およびプロトロンビン時間（PT）を評価した。スクリーニング時、ベースライン時、ならびに毎回の試験の来院時（1週目の来院を除く）に、血液試料は、ヘモグロビン濃度および血小板数を測定するために採血された。

【0351】

血液生化学検査：血液試料は、スクリーニング時、ベースライン時、ならびに試験13、25、37、および53週目に、血清生化学検査のために採血された。以下の血液生化学検査パラメータは、ナトリウム、アラニンアミノトランスフェラーゼ、カリウム、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、グルコース、乳酸脱水素酵素、全カルシウム、ガンマグルタミン酸転移酵素、総タンパク質、クレアチニンホスホキナーゼ、アルブミン、NTx*、クレアチニン、CTX*、尿素窒素、葉酸（スクリーニングのみ）、総ビリルビン、ビタミンB₁₂（スクリーニングのみ）、アルカリ性ホスファターゼ*を評価した（*の結果は、骨バイオマーカーの評価のために使用された）。

10

【0352】

尿検査：尿試料は、スクリーニング時、ベースライン時、ならびに試験13、25、37、および53週目に、尿検査のために収集された。以下の尿検査パラメータは、pH、巨視的評価、微視的評価を評価した。

【0353】

血清抗ベラグルセラーゼアルファ抗体の判定：全ての患者は、血清抗ベラグルセラーゼアルファ抗体の判定のために、スクリーニング中のみ、採血した血液試料を得た。陽性の結果を有する患者は、本試験から除外された。

20

【0354】

血清抗ベラグルセラーゼアルファ抗体の判定：患者は、ベースライン時、ならびに治療相中、ほぼ6週間おき（7、13、19、25、31、37、43、および49週目）、および53週目に、血清中の抗ベラグルセラーゼアルファ抗体を測定するために血液試料を提供した。治療相中、これらの血液試料は、注入前に収集された。

【0355】

有害事象：有害事象は、本試験を完了したが、53週目の来院前に、本試験から長期臨床試験の登録に選ばれなかった患者については、インフォームドコンセント／同意から最終の注入から30日後までの試験を通して観察した。本試験を完了し、かつ長期臨床試験の登録に選ばれた患者については、有害事象は、インフォームドコンセント／同意から53週目の来院までモニタリングした。

30

【0356】

既存および併存する病気：ベースラインで存在するさらなる病気は、併存する病気として見なされ、CRFの適切な病歴のページに文書化された。初発するか、もしくは本試験中検出される病気、または本試験中併存する病気の悪化は、有害事象として見なされ、CRF等に文書化された。

【0357】

肝臓および膵臓のMRI：患者は、ベースライン、25週目、および51週目に、肝臓および膵臓のMRIを有した。肝臓および膵臓の大きさは、定量的な腹部MRIを用いて測定された。

40

【0358】

血漿キトトリオシダーゼ値：血液試料（約2.5mL）は、ベースライン、13、25、37、および53週目に、血漿キトトリオシダーゼ値の評価のために収集された。

【0359】

血漿CCL18値：血液試料（約2.5mL）は、ベースライン、13、25、37、および53週目に、血漿CCL18値の評価のために収集された。

【0360】

生活の質試験：ベースライン時、および53週目での患者の生活の質は、Short Form 36（SF-36）、バージョン2（18歳以上の患者に対して）、および小

50

児健康調査票（CHQ）、PF50（5～17歳の患者に対して）を含む、有効な質問表を用いて評価した。

【0361】

発育速度およびタナー分類：2～17歳の患者の発育は、ベースライン時、ならびに13、25、37、および53週目に評価した。発育速度は、身長および体重測定を用いて算出され、本試験中の一定の時点で記録した。本試験中の患者の発育速度は、疾病対策予防センターの身長および体重のデータから得られた同等の年齢の正常な個人の発育速度に対抗して測定された。タナー分類は、ベースライン時、ならびに13、25、37、および53週目に記録した。

【0362】

骨格成長：2～17歳の患者は、骨年齢の評価のために、ベースライン時および51週目に、左手および手首のX線撮影を行った。

【0363】

肺機能検査：ベースライン時および53週目に、肺活量測定を実施する設備のある試験施設で登録した18歳以上の患者は、PFTを有した。

【0364】

肺活量測定は、肺活量測定の標準化について米国胸部学会（American Thoracic Society）または欧州呼吸器学会（European Respiratory Society）によって公開された手引きに従って実施した（American Thoracic Society. Standardization of Spirometry. Am J Respir Crit Care Med. 1995; 152:1107-1136、Quanjer et al. Eur Respir J. 1993; 16 (Suppl):5-40）。努力肺活量（FVC）および努力呼気肺活量／秒（FEV₁）はともに、絶対値および正常の予測された割合（％）として表され、これは、成人の公開された参照値に基づいて算出された（Hankinson et al. Am J Respir. Crit Care Med. 1999; 159:179-187）。現在の身長を算出のために使用した。

【0365】

肺容量および拡散容量（DL_{CO}）の判定は、肺活量検査と同時に実施された。肺容量の測定は、全排気量（TLC）および残留量（RV）を含み、これらは、公開された参照値に基づいて、絶対値および正常の予測された割合（％）として記録した。DL_{CO}もまた、公開された参照値に基づいて、絶対値および正常の予測された割合（％）として表された。

【0366】

薬物動学的評価：18歳以上の患者については、血液試料は、1週目（1日目）および37週目に、以下の時間で収集された：初期投与直後、注入中（試料は、5、10、15、20、40、および60（注入の終了）分間で収集）、および注入後（試料は、65、70、80、90、105、および120分間で収集）。

【0367】

2～17歳の患者については、血液試料は、1週目（1日目）および37週目に、以下の時間で収集された：初期投与直後、注入中（試料は、10、20、40、および60（注入の終了）分間で収集）、および注入後（試料は、70、80、および90分間で収集）。

【0368】

血清試料は、グルコセレブロシダーゼ抗原免疫測定法を用いて、投与したベラグルセラールゼアルファの存在について評価した。以下のPKパラメータは、AUC（濃度曲線下面積）、C_{max}（最大血清濃度）、T_{max}（最大血清濃度到達時間）、CL（mL／分／kg）（血清クリアランス、体重に対して正規化）、V_{ss}（mL）（定常状態での見かけの分布体積）、V_{ss}（％BW）（V_{ss}は、体重に対して正規化）、MRT（平均滞留時間）、およびT_{1/2}（排出半減期（適切なPKモデルを用いて分析））を評価した

10

20

30

40

50

。

【0369】

骨バイオマーカー：ベースライン時でのみ、18歳以上の患者は、ゴースェ病関連の局所および全身骨疾患を判定するために、冠状断撮像を含む、腰椎および大腿骨頸のDXAを行った。骨量の減少および脱塩はまた、血清アルカリ性ホスファターゼ、NTx、およびCTXを測定することによって判定された。これらのパラメータの結果は、ベースライン時でのみ、臨床検査試験のために採血された血液試料から得られた。

【0370】

2～17歳の患者の大腿骨頸および腰椎のMRIは、ベースラインで得た（すなわち、同時に、患者は、肝臓および脾臓のMRIを行った）。いかなる治療効果は、本試験中、これらのパラメータに対して明らかであることは、期待されず、したがって、測定は、長期臨床試験中、これらのバイオマーカーをモニタリングするための参照点を確立するために、ベースライン時でのみ収集された。

10

【0371】

有害事象

有害事象の定義：有害事象（AE）は、身体的兆候、症状、および／または臨床試験のいかなる相に生じる検査室での変化によって示されるような、治験薬関連であると見なされるか、または見なされないにかかわらず、解剖学的、生理学的、または代謝機能の任意の有毒な、病理、または意図的ではない変化である。これには、先行する状態の再燃が含まれる。有害事象は、インフォームドコンセント／同意から、治験薬の最終投与から30日後まで、および／または事象が消散する／安定化される、あるいは成果を達するまで、いずれか早い方で収集された。本試験を完了し、かつその後の長期臨床試験の登録に選ばれた患者については、有害事象は、患者がインフォームドコンセントを提出した時からTKT032の53週目の来院までモニタリングした。

20

【0372】

有害事象には、本試験の開始時に存在する状態の悪化（性質の変化、重症度、または頻度）；病気の併発；薬物間相互作用；併用薬に関連する、または関連の可能性がある事象；異常な検査室での値（これは、治験責任医師が臨床的に重要であると見なす正常の範囲内でベースラインからの有意な推移を含む）；健康診断、バイタルサイン、体重、およびECGの臨床的に有意な異常を含む。

30

【0373】

加えて、有害事象はまた、著しく範囲外になり、治験責任医師によって臨床的に有意であると判定された予期しない試験値も含み得る。

【0374】

注入関連の有害事象の定義：注入関連の有害事象は、1）注入中、あるいは注入を開始してから12時間以内に始まる、および2）治験薬への関連の可能性あり、または多分関連ありと判断される、有害事象として定義される。注入前に実施された、プロトコル定義された試験および評価（例えば、検査室試験、ECG、および健康診断）と関連する有害事象と同様に、注入前に生じた他の有害事象は、注入関連の有害事象として定義されない。

40

【0375】

重篤有害事象の定義：重篤有害事象（SAE）は、以下の結果のいずれかをもたらす任意の投与で生じる任意の有害事象である：死亡、生命にかかわる、入院を必要とする、既存の入院の延長を必要とする、持続的もしくは重大な障害／不能、および先天異常／出生異常。

【0376】

死に至らないかもしれない、生命にかかわる、または入院を必要とする重大な医療事象は、適切な医療判断に基づき、患者を危険にさらし、上記の結果のうちの1つを防止するために医療または手術の介入を必要とする場合に、重篤有害事象として見なされる場合がある。

50

【0377】

生命にかかわる有害事象は、最初の報告者の観点から、それが生じた際、その有害事象から直接死の危険性に患者を置く有害事象として定義される（すなわち、さらに重症な状態で生じた場合、死を招いたかもしれない有害事象は含まない）。

【0378】

有害事象と重篤有害事象の分類：国立癌研究所共通毒性基準（National Cancer Institute Common Toxicity Criteria、NCI CTC） Version 3.0の評価尺度を、有害事象の重症度を評価する場合に参照した。有害事象が、NCI CTCに記載されなかった場合、重症度は、以下の尺度に基づいて記録された。全ての有害事象／重篤有害事象の重症度は、それぞれ、軽度、中度、重度、または生命にかかわるの重症度に相当するグレード1、2、3、または4として、適切なCRFページに記録した。グレード1（軽度）は、日常活動には支障がないとして定義される。グレード2（中度）は、日常活動にいくつかの支障があるとして定義され、グレード3（重度）は、日常活動を行うことができないとして定義され、グレード4（生命にかかわる）は、直接死の危険性があるとして定義される。

10

【0379】

盲検治験薬との有害事象または重篤有害事象の関係は、以下の定義に基づいて治験責任医師によって判定された。「関連なし」とは、治験薬とは関連がないとして定義される。「関連の可能性あり（Possibly related）」とは、治験薬の投与への妥当な時間系列がある臨床事象／検査所見の異常として定義されるが、これは、併発症または他の薬物／化学物質によっても説明され得る。「多分関連あり（Probably related）」とは、治験薬の投与への妥当な時間系列がある臨床事象／検査所見の異常として定義されるが、併発症または他の薬物および化学物質に起因する可能性は低く、投与中止（dechallenge）における臨床的に妥当な反応が起こる。臨床事象／検査所見の異常の関連性はまた、少なくとも理論的基礎において、いくつかの生物学的妥当性を有さなくてはならない。

20

【0380】

重篤と重度との明確化：「重度」という用語は、しばしば、特定の事象の強度（重症度）（軽度、中度、または重度の心筋梗塞等の場合）を説明するために使用されるが、事象それ自体は、比較的規模の小さい医学的意義（重度の頭痛等）である場合がある。これは、「重篤」とは同じではなく、通常、生命の危険または生活機能（functioning）を脅かすものをもたらす事象と関連する結果または作用基準に基づく。重篤度（重症度ではない）および因果関係は、規制報告義務を定義するための指針としての役割を果たす。

30

【0381】

有害事象のモニタリングおよび観察期間：本試験の目的のための観察期間は、インフォームド Consent／同意から、本試験の患者の最終評価まで延長された。安全性の目的のための最終評価は、本試験を完了し、長期試験の登録に選ばれなかった患者のために、最後の注入から約30日後に実施される試験後の安全性評価として定義された。本試験を完了し、かつ長期臨床試験の登録に選ばれた患者については、有害事象は、患者がインフォームド Consentを提出した時からTKT032の53週目の来院までモニタリングした。

40

【0382】

統計的方法：

一般的な統計的方法：統計分析は、全ての有効性変数のITT原則に基づいた。ITT分析は、少なくとも1回の注入（完全または部分的な注入）を受けた全ての無作為化した患者に基づいた。要約統計量を、治療群によって各パラメータについてベースラインからの変化および変化率に対して提供した。ベースラインからの平均変化および平均変化率における、両側95%信頼区間は、各エンドポイントについて、治療群によって示された。

【0383】

ベースライン時およびその後の試験の来院時に収集された継続的データは、要約され、

50

各変数についての平均値、標準偏差、最小値、最大値、および中央値は、治験薬に起因する可能性のある、経時的動向についての追求を促進した。カテゴリ変数は、頻度および割合に関して示された。群内での変化は、対応のある t 検定を用いて解析した。統計的有意性は、0.05 の水準で定義された。

【0384】

対象属性の特性およびベースライン特性は、頻度およびパーセント値として要約され、データは、記述統計量を用いて示された。さらなる分析は、2～17歳の患者に特定して実行された。

【0385】

概して、記述統計量およびグラフは、関連性のある場合、個人的に、および各治療群について、患者についての経時的発育を示すグラフを含む、試験の結果を示すために使用された。

10

【0386】

安全性は、報告された有害事象、臨床検査室データ、ECG記録、病歴、バイタルサイン、および健康診断に基づいて評価された。加えて、血液試料は、抗ベラグルセラゼアルファ抗体の存在の判定のために分析された。

【0387】

仮説検定：全ての仮説検定は、両側であり、0.05水準の有意性で実施された。各変数は、ベースラインからの平均変化またはベースラインからの平均変化率として定量化した。検定される各変数についての帰無仮説は、51週目または53週目に、ベースラインからの変化がないことである。対立仮説は、ベースラインからのいずれの方向の変化があることである。

20

【0388】

スクリーニング不適格：本試験に登録するためにスクリーニングされた全ての患者の処分が、スクリーニング不適格の理由とともに表に示された。全ての無作為化した患者の処分は、治療および来院別に表に示し、中断の理由は治療別に表に示した。

【0389】

サンプルサイズの正当化：本試験のサンプルサイズは、ベースラインから12ヶ月時点の平均ヘモグロビン濃度の臨床的に有意な差異を検出するために高性能であるように選択された。治療群当たり合計12人の患者が、一次分析のために必要とされた。この数は、ベースラインの結果からの患者における変化の試験を行った、第I/I相試験TKT025からの結果に基づいた。25週目に、ベースラインからの平均ヘモグロビン増加は、1.92 g/dLであり、0.824の標準偏差があることが観察された。仮説は、平均変化の標準偏差がほぼ同じであるというものであった。0.05の両側のアルファ水準の使用、ヘモグロビンの1単位の変化の見込みは、臨床的に有意であると見なされ、ベースラインからの変化の標準偏差は、0.824であり、10人の患者は、検出力90%を有するために試験に必要とされる。20%のドロップアウトを見込み、治療群当たり12人の患者が必要とされる。さらなる安全性データを収集し、起こり得る患者のドロップアウトから保護し、標的患者集団を達成するために、最大30人の患者が、本試験に登録され得る。

30

40

【0390】

分析集団：有効性データの解析のために一次集団は、少なくとも1回のベラグルセラゼアルファ注入（または部分的な注入）を受ける全ての登録した、治療を受けた患者として定義される、ITT患者集団であった。ベースライン後のデータの欠落による、元の無作為化試料からの人員の欠落は、かかる患者の除外による、バイアスに関する懸念を最小化するために、十分に小さい（5%以下）ことが、予測された。

【0391】

安全性集団は、少なくとも1回の試験注入（または部分的な注入）を受けた全ての無作為化した患者から構成された。患者を無作為化した試験注入を受けなかった安全性集団の任意の患者は、彼らが無作為化治療以外に主に受けた注入に従って分析された。このよう

50

な患者は、パープロトコル (Per-Protocol) (PP) 患者集団から除外された。パープロトコル患者集団は、予定された注入の80%以上を受け、かつベースラインならびに51週目および／または53週目の評価が有効である、全ての無作為化した患者として定義される。

【0392】

有効性分析：本試験に登録するためにスクリーニングされた全ての患者の性質が、スクリーニング不適格の理由とともに表に示された。全ての無作為化した患者の性質は、治療および来院別に表に示し、中断の理由は表に示した。

【0393】

一次臨床活性変数は、60 U/kg のベラグルセラゼアルファに対して無作為化された患者におけるヘモグロビン濃度である。第1の目的は、60 U/kg のベラグルセラゼアルファに対して無作為化された患者における、ベースラインから12ヶ月時点でのヘモグロビンの平均変化を示すことによる有効性を示すことである。分析目的のために、スクリーニングおよびベースラインで収集されたヘモグロビン値を平均化して、変化を算出するために使用されるベースラインを確立した。帰無仮説は、ベースラインから12ヶ月時点で、ヘモグロビン濃度の変化がないことである。ベースラインから12ヶ月時点までの平均差は、対応のあるt検定またはウイルクソンの符号順位検定を用いて検定された。平均差の95%信頼区間も示された。

【0394】

二次および三次臨床活性変数は、ヘモグロビン濃度（ベースラインから12ヶ月時点（53週目）までの変化は、45 U/kg 群について評価された）；血小板数（ベースラインから12ヶ月時点（53週目）までの変化は、両方の治療群について評価された）；脾臓体積（ベースラインから12ヶ月時点（51週目）までの変化率は、両方の治療群について評価された）；観察された値に加えて、脾臓体積は、体重によって正規化され、複数の正常によっても示された）；肝体積（ベースラインから12ヶ月時点（51週目）までの変化率は、両方の治療群について評価された）；観察された値に加えて、肝体積は、体重によって正規化され、複数の正常によっても示された）；血漿キトトリオシダーゼ（ベースラインから12ヶ月時点（53週目）までの変化は、両方の治療群について評価された）；統計的に有意な減少が、治療から12ヶ月後に予測された）；血漿CCL18（ベースラインから12ヶ月時点（53週目）までの変化は、両方の治療群について評価された）；統計的に有意な減少が、治療から12ヶ月後に予測された）；生活の質（SF-36およびCHQ）（ベースラインから12ヶ月時点（53週目）までの変化は、両方の治療群について評価された）；ヘモグロビン応答（ヘモグロビン応答を達成するまでの時間、両方の治療群について評価される1 g/dL以上のヘモグロビン濃度の増加として定義される）；発育速度およびタナー分類（ベースラインから12ヶ月時点（53週目）までの変化は、2～17歳の患者の両方の治療群について評価された）；骨年齢（ベースラインから12ヶ月時点（51週目）までの変化は、2～17歳の患者の左手および手首のX線撮影によって測定されるように、両方の治療群について評価された）；ならびに、PFT（ベースラインから12ヶ月時点（53週目）までの変化は、18歳以上の患者の両方の治療群について評価された）である。

【0395】

45 U/kg のベラグルセラゼアルファに対して無作為化した患者における、ベースラインから12ヶ月時点（53週目）までのヘモグロビンの平均変化を示すために使用される第2の目的のために、帰無仮説は、ベースラインから12ヶ月時点（51週目または53週目）までの変化がないだろうというものである。分析目的については、スクリーニングおよびベースラインで収集されたヘモグロビン値を平均化して、変化を算出するために使用されるベースラインを確立した。ベースラインから12ヶ月時点（51週目または53週目）までの平均差は、対応のあるt検定またはウイルクソンの符号順位検定を用いて検定された。平均差の95%信頼区間も示された。

【0396】

残りの二次パラメータについては、帰無仮説は、各治療群について、ベースラインから12ヶ月時点（51週目または53週目）までの変化がないだろうというものである。分析目的については、スクリーニングおよびベースラインで収集された血小板値を平均化して、両方の治療群についての変化を算出するために使用されるベースラインを確立した。ベースラインから12ヶ月時点（51週目または53週目）までの平均差は、対応のあるt検定またはウイルクソンの符号順位検定を用いて検定された。平均差の95%信頼区間も示された。

【0397】

ヘモグロビン応答までの時間については、カプランマイヤー（積極限）生存曲線を、各治療群について示した。中央値の時間および95%信頼区間を得た。本試験の終了時（すなわち、53週目）で事象を経験しなかった患者は、53週目で打ち切った。加えて、本試験中、正常範囲内でヘモグロビン値を達成した患者の割合を示した。

10

【0398】

ベースラインからの変化を分析する残りの三次パラメータについては、帰無仮説は、各治療群について、ベースラインから12ヶ月時点（51週目または53週目）までの変化がないだろうというものである。ベースラインと12ヶ月時点（51週目または53週目）の間の平均差は、対応のあるt検定またはウイルクソンの符号順位検定を用いて検定された。平均差の95%信頼区間も示された。

【0399】

安全性分析：少なくとも1回の治験薬の投与（または部分的な投与）を受けた全ての患者は、臨床的安全性および耐受性について評価された。安全性パラメータにおける正式な統計的検定は実施されなかった。バイタルサイン、12リード線心電図、臨床化学、血液学、および尿検査の安全性モニタリングは、各患者について記載され、異常値をフラグ化した。有害事象等のカテゴリ変数については、各有害事象を経験している患者数および割合を表に示した。有害事象を、事象の重症度別に要約した。薬物関連の有害事象を経験している患者数および割合、ならびに治験薬と関連すると見なされない事象も表示した。

20

【0400】

臨床検査室評価（血液学、血液生化学検査、尿検査、および抗ベラグルセラーゼアルファ抗体への判定）を使用して、ベラグルセラーゼアルファの安全性を評価した。

【0401】

亜群の分析：さらなる分析は、2～17歳の患者に特定して実行された。また、ヘモグロビンベースライン値に関しては、疾患重症度に対する分析において考慮がなされた。

30

【0402】

薬物動態分析：ベラグルセラーゼアルファについての単回および反復投与の薬物動態プロファイルは、それぞれ、1週目および37週目に、標準PKパラメータを分析することによって、確立された。

【0403】

結果

12ヶ月で、ヘモグロビン濃度は、両群で増加し（60 U/kg：23.3%の増加、+2.4±0.3 g/dL、P=0.0001；45 U/kg：23.8%の増加、+2.4±0.5 g/dL、P=0.0001）、平均血小板数も増加した（60 U/kg：66%の増加、+51±12×10⁹/L、P=0.0016；45 U/kg：66%の増加、+41±12×10⁹/L；P=0.0111）。平均脾臓体積は、両群で減少し（60 U/kg：50%の減少、-1.9±0.5%体重、P=0.0032、ベースラインで正常[MN]の14.0倍から5.6 MN；45 U/kg：40%の減少、-1.9±0.6%体重、P=0.0085；14.5から9.5のMN）、肝体積も減少した（60 U/kg：17%の減少、0.8±3.1%体重、P=0.0282、1.5から1.2のMN；45 U/kg：6%の減少、-0.3±0.3%体重、P=0.3149、1.4から1.2のMN）。

40

【0404】

50

両群では、15週目までに、患者の3/4が、1 g/dL以上のヘモグロビン濃度の増加を達成し、60 U/kg群では、全ての患者が、27週目までに1 g/dL以上の増加を達成し、45 U/kg群において、37週目までに達成した。

【0405】

患者は、2つのキトトリオシダーゼ変異の複製があった場合（患者6、45 U/kg）、または5700を下回るベースラインのキトトリオシダーゼ活性があった場合（患者4、60 U/kg；患者15、45 U/kg）、キトトリオシダーゼの分析から除外された。治療から12ヶ月後、平均血漿キトトリオシダーゼ活性は、両方の治療群において、ベースラインから減少した。60 U/kg群では、83%減少（95%信頼区間：-91.15、-74.08%；N=11； $p<0.001$ ）、および45 U/kg群では、60%減少した（95%信頼区間：-73.26、-46.63%；N=11； $p<0.001$ ）。平均CCL18値もまた、60 U/kgおよび45 U/kgのベラグルセラールファによる1年間にわたる治療により、それぞれ、66%減少（95%信頼区間：-77.81、-54.22； $p<0.001$ ）および47%減少した（95%信頼区間：-63.37、-30.15%； $p<0.001$ ）。

10

【0406】

ベラグルセラールファは、一般的に、薬物関連の重篤有害事象のない、良好な耐容性を示し、有害事象による投与を中止する患者は、いなかった。最も一般的な有害事象は、頭痛、鼻咽頭炎、損傷、関節痛、咳、および発熱であった。1人の患者は、抗体を形成した。

20

【0407】

結論として、この世界的規模の多施設試験では、60 U/kgおよび45 U/kgのベラグルセラールファは、一般的に、良好な耐容性を示し、1型ゴーシェ病に罹患する成人および子供の第一選択治療として有効であった。両方の投与は、ヘモグロビン値の迅速な改善と関連があり、大部分の患者は、早ければ15週間で効果を示した。測定した全ての臨床的パラメータは、12ヶ月後、臨床的に有意な改善を示し、60 U/kgのベラグルセラールファでより大きな効果が見られた。

【0408】

実施例3：HGT-GCB-039（9ヶ月、60 U/kgのベラグルセラールファまたはイミグルセラールゼ）

30

要約

本実施例は、1型ゴーシェ病に罹患する患者の治療における、酵素補充療法のベラグルセラールファの安全性および有効性を、イミグルセラールゼと比較するように設計された、多施設第III相無作為化二重盲式の並列群検定である。

【0409】

本実施例の第1の目的は、ベースラインから41週目（9ヶ月）までのヘモグロビン濃度の変化によって測定されるように、ベラグルセラールファがイミグルセラールゼより劣っていないことを示すことである。主要な第2の目的は、血小板数の増加または肝体積/脾臓体積の減少において、41週目まで、2つの群間で差異がないことを示すことである。

40

【0410】

患者は、60 U/kgのベラグルセラールファ（N=17）またはイミグルセラールゼ（N=17）を受けるように、1:1の比率で無作為化された。患者のベースライン特性を、表13および14に記載する。層別因子には、年齢（2~17； ≥ 18 ）および脾臓状態（Y；N）が含まれた。第1および第2の目的はともに、満たされた。第1および第2の有効性評価の結果を、それぞれ、表15および16に示す。図11および12は、それぞれ、41週間、60 U/kgのベラグルセラールファまたはイミグルセラールゼにより治療した患者における、ベースラインからの平均ヘモグロビン濃度および血小板数の同等の増加を示す。図13は、41週間、60 U/kgのベラグルセラールファまたはイミグルセラールゼにより治療した脾臓のない患者における、ベースラインからの平均

50

血小板数の同等の増加を示す。図 1 4 は、4 1 週間、6 0 U / k g のベラグルセラゼアルファまたはイミグルセラゼにより治療した患者における、ベースラインからの正規化した平均肝体積の同等の減少を示す。ベラグルセラゼアルファとイミグルセラゼの間で安全性の有意な差異はなかった。治療中に発生した有害事象を、表 1 7 に要約する。ベラグルセラゼアルファを受けている患者は、抗体を形成しなかった（表 1 8）。イミグルセラゼを受けている 4 人の患者は、抗イミグルセラゼ抗体を形成した（表 1 8）。【表 1 3】

表 1 3 I T T の H G T - G C B - 0 3 9 のベースライン特性

ベースライン因子	ベラグルセラゼアルファ 60U/kg N = 17	イミグルセラゼ 60U/kg N = 17
2～17 歳 n (%)	4 (23.5)	5 (29.4)
2～4 歳 n (%)	0	4 (23.5)
5～17 歳 n (%)	4 (23.5)	1 (5.9)
18 歳以上 n (%)	13 (76.5)	12 (70.6)
男性 n (%)	8 (47.1)	8 (47.1)
女性 n (%)	9 (52.9)	9 (52.9)
脾摘	10 (58.8)	10 (58.8)
無傷脾臓を有する	7 (41.2)	7 (41.2)
BL ヘモグロビン濃度(g/dL) 中央値 [最小、最大]	11.40 [9.65, 14.35]	10.60 [8.10, 13.05]
BL 血小板数($\times 10^9/L$) 中央値[最小、最大]	172.00 [44.0, 310.5]	188.00 [63.0, 430.5]

【表 1 4】

表 1 4 年齢群別の H G T - G C B - 0 3 9 のベースライン特性

ベースライン 因子	2～4 歳 N = 4	5 歳以上 N = 30
男性 n (%)	4 (100.0)	12 (40.0)
女性 n (%)	0	18 (60.0)
脾摘	1 (25.0)	19 (63.3)
無傷脾臓を有する	3 (75.0)	11 (36.7)
BL ヘモグロビン濃度 (g/dL) 中央値[最小、最大]	9.275 [8.10, 9.70]	11.300 [8.95, 14.35]
BL 血小板数 ($\times 10^9/L$) 中央値[最小、最大]	70.75 [63.0, 188.0]	176.25 [44.0, 430.5]
BL 脾臓体積 (体重 (%)) 中央値[最小、最大]	8.90 [7.3, 8.9]	1.70 [0.6, 6.3]
BL 肝体積 (体重 (%)) 中央値[最小、最大]	5.8 [5.4, 7.0]	3.85 [1.7, 12.2]

【表 1 5】

表 1 5 HGT-GCB-039 の第 1 の有効性評価-ヘモグロビンの非劣性の片側信頼区間における、ベースラインから 41 週目での平均変化 (ベラグルセラールゼアルファ-イミグルセラールゼ)

ベースラインから 41 週目の変化の治療差						
ITT 集団				プロトコル集団当たり		
パラメータ/ エンドポイント	n	平均 治療 差	97.5% 片側信頼区間の 下界	n	平均 治療 差	97.5% 片側信頼区間の 下界
ヘモグロビン濃度(g/dL)						
	34	0.135	-0.596	30	0.157	-0.599

10

【表 1 6】

表 1 6 HGT-GCB-039 の二次有効性評価-ベースラインから 41 週目の平均変異の差 (ベラグルセラールゼアルファ-イミグルセラールゼ)

20

ベースラインから 41 週目の変化			
パラメータ	n	平均 治療 差	95% 信頼区間
血小板 ^a ($\times 10^9/L$)	34	-38.71	(-88.42, 10.99)
正規化した肝体積 ^a (体重の割合 (%))	34	-0.07	(-0.43, 0.29)
正規化した脾臓 ^b 体積 ^c (体重の割合 (%))	14	0.08	(-0.52, 0.68)
キトトリオシダーゼ ^d (nmol/mL/時)	21	-703.6	(-11762.3, 10355.1)
ケモカイン(C-C モチーフ)リガンド 18 (ng/mL)	34	145.7	(-188.6, 480.0)

30

a ーインフォームドコンセントでの年齢、脾摘状態、およびベースライン値に合わせて調整した混合モデルに基づく

b ー20人の脾摘患者を除外した(10人のベラグルセラールゼアルファ 60 U/kg、10人のイミグルセラールゼ 60 U/kg)。

40

c ーインフォームドコンセントでの年齢、およびベースライン値に合わせて調整した混合モデルに基づく

d ーキトトリオシダーゼ活性が欠損した13人の患者を除外した(7人のベラグルセラールゼアルファ 60 U/kg、6人のイミグルセラールゼ 60 U/kg)。

【表 17】

表 17 HGT-GCB-039 の治療中に発生した有害事象の全般的要約

説明	患者 n(%)	
	ベラグルセラージェ アルファ 60U/kg N = 17	イミグルセラージェ 60U/kg N = 17
有害事象を経験したことがない	1 (5.9)	1 (5.9)
少なくとも 1 つの有害事象を経験した	16 (94.1)	16 (94.1)
少なくとも 1 つの薬物関連の有害事象を経験した	8 (47.1)	6 (35.3)
少なくとも 1 つの注入関連の有害事象を経験した	5 (29.4)	4 (23.5)
少なくとも 1 つの重度または生命にかかわる有害事象を経験した	3 (17.6)	2 (11.8)
少なくとも 1 つの重篤有害事象を経験した	3 (17.6)	0
少なくとも 1 つの薬物関連の重篤有害事象を経験した	1 (5.9)	0

10

20

【表 18】

表 18 HGT-GCB-039抗体

抗イミグルセラージェ抗体の結果	ベラグルセラージェアルファ	イミグルセラージェ
	ア 60U/kg N = 17 n (%)	60U/kg N = 17 n (%)
陰性	17 (100.0)	13 (76.5)
陽性 ^a	0	4 (23.5)
IgG	0	4 (23.5)
IgA	0	0
IgM	0	0
IgE	0	0
中和抗体	0	1 (5.9)
抗ベラグルセラージェアルファ抗体の結果		
陰性	17 (100.0)	16 (94.1)
陽性 ^a	0	1 (5.9)
IgG	0	1 (5.9)
IgA	0	0
IgM	0	0
IgE	0	0
中和抗体	0	1 (5.9)

【0411】

試験の目的

本試験の第1の目的は、1型ゴーシェ病に罹患する患者における、ヘモグロビン濃度へのベラグルセラージェアルファおよびイミグルセラージェの効果を比較することであった。

【0412】

本試験の第2の目的は、血小板数におけるベラグルセラージェアルファおよびイミグルセラージェの効果を比較すること；肝体積および脾臓体積（MRIにより）におけるベラグルセラージェアルファおよびイミグルセラージェの効果を比較すること；ゴーシェ病固有のバイオマーカー（血漿キトトリオシダーゼおよびCC18値）におけるベラグルセラージェアルファおよびイミグルセラージェの効果を比較すること；各治療群について、標準的な臨床検査による評価（抗体形成速度および酵素中和抗体活性を含む）および安全性評価（注入関連の有害事象の速度および注入関連の有害事象を抑制するために前投薬を必要とする患者の割合を含む）によって測定する場合、1型ゴーシェ病に罹患する患者における、ベラグルセラージェアルファおよびイミグルセラージェの安全性を評価すること；ならびにヘモグロビンに対する応答までの初期時間におけるベラグルセラージェアルファおよびイミグルセラージェの効果を比較すること（ベースラインと比較して、1g/dL以上のヘモグロビン値の改善として定義される）であった。

【0413】

本試験の第3の目的は、2～17歳の患者の発育速度およびタナー分類における、ベラ

グルセラーゼアルファおよびイミグルセラーゼの効果を評価すること；左手および手首のX線撮影による、2～17歳の患者の骨年齢における、ベラグルセラーゼアルファおよびイミグルセラーゼの効果を評価すること；18歳以上の患者に対しては、SF-36、および患者5～17歳の患者に対しては、CHQ-PF-50によって測定されるように、全般的QoLの変化における、ベラグルセラーゼアルファおよびイミグルセラーゼの効果を評価すること；選択されたサイトカイン評価（TNF- α 、IL6、IL1b、IL8、IL13、CD14、およびGM-CSF）によって測定されるように、18歳以上の患者の免疫および炎症反応における、ベラグルセラーゼアルファおよびイミグルセラーゼの効果を評価すること；腰椎および大腿骨頸のMRIにより、2～17歳の患者の骨疾患を評価するためのベースラインを確立すること；ならびに、冠状断撮像を含む、腰椎および大腿骨頸の二重エネルギーX線吸収法（DXA）ならびに、血清アルカリ性ホスファターゼ、N-テロペプチド架橋（NTx）、およびC-テロペプチド架橋（CTX）による、18歳以上の患者のゴーシェ病関連の局所および全身骨疾患における、ベラグルセラーゼアルファ療法の長期効果を評価するためのベースラインを確立することである。

10

【0414】

試験エンドポイント

本試験の第1のエンドポイントは、2つの治療群間のヘモグロビン濃度のベースラインから41週目／試験終了時（EOS）の平均変化を測定することである。

【0415】

本試験の第2のエンドポイントは、有害事象および注入関連の有害事象（および注入関連の有害事象を抑制するために前投薬を必要とする患者の割合を含む）、臨床検査室評価、バイタルサイン、12リード線心電図（ECG）、抗体形成および酵素中和抗体活性によって評価されるように、ベラグルセラーゼアルファおよびイミグルセラーゼの安全性を評価すること；治療群間での血小板数におけるベースラインからの平均変化率を比較すること；治療群間でのMRIによる、肝体積および脾臓体積におけるベースラインからの平均変化率を比較すること；治療群間での血漿キトトリオンダーゼおよび血漿CCl18値におけるベースラインからの平均変化率を比較すること；および治療群間での治療群間のヘモグロビン濃度（ベースラインと比較したヘモグロビン値の1g/dL以上の改善として定義される）に対する応答時間を比較することである。

20

【0416】

本試験の第3のエンドポイントは、各治療群内の2～17歳の患者について、発育速度およびタナー分類におけるベースラインからの変化を評価すること；各治療群内の18歳以上の患者について、SF-36パラメータにおけるベースラインからの変化を評価すること；選択されたサイトカイン評価（TNF- α 、IL6、IL1b、IL8、IL13、CD14、およびGM-CSF）によって測定されるように、18歳以上の患者について、免疫および炎症反応におけるベラグルセラーゼアルファおよびイミグルセラーゼの効果を評価すること；各治療群内の5～17歳の患者について、CHQ（PF-50）パラメータにおけるベースラインからの変化を評価すること；および各治療群内の2～17歳の患者について、左手および手手首のX線撮影によって評価されるように、骨年齢におけるベースラインからの変化を評価することである。

30

40

【0417】

全般的試験設計

本試験は、以下の通りの5つの相から構成された。スクリーニング：-21日目から-4日目；ベースライン：-3日目から0日目（患者の無作為化を通して）；治療：1週目（1日目、すなわち、初期投与日）から39週目まで；試験終了の来院：41週目；

追跡調査の連絡：最終の注入から30日後（41週目の評価前に中断／中止する患者に対して、または長期臨床試験の登録に選ばれない患者に対して）。

【0418】

スクリーニングで、本試験に参加する書面によるインフォームドコンセントを提出した患者は、適任性を判定するために、試験参加基準についての再調査が行われた。患者は、

50

ヘモグロビン濃度を測定するために血液試料を提供した。年齢および性別による正常値の下限を下回るヘモグロビン濃度を有するこれらの患者のみが、登録に適した。統計分析の目的のために、追加の血液試料が、ヘモグロビン濃度の評価のためのスクリーニングで収集された。

【0419】

スクリーニング評価を完了した後、試験参加に適した患者は、ベースラインの手順および評価（すなわち、－3日目から0日目）を受けた。患者のヘモグロビン濃度が、年齢および性別による正常値の下限を下回ることを確認するために、患者は、ベースラインで血液試料を提供した。ヘモグロビン濃度を、分析し、報告した。スクリーニング時およびベースライン時の両方で、年齢および性別による正常値の下限を下回るヘモグロビン濃度を有するこれらの患者のみが、登録に適した。統計分析の目的のために、追加の血液試料は、ヘモグロビン濃度の評価のためのベースライン時に採血された。さらなるベースラインの手順および評価を、盲検治療薬の初期投与を実施する前に行った。

10

【0420】

スクリーニングおよびベースラインの手順が完了し、患者の適任性が確認されると、患者は、二重盲検治療薬（60 U/kg のベラグルセラゼアルファあるいは60 U/kg のイミグルセラゼのいずれか）を受けるように、1：1の比率で無作為化された。無作為化は、中央審査方式（centralized procedure）によって達成した。コンピュータ処理の無作為化スケジュールを利用して、治療群に患者を割り当てた。年齢、ヘモグロビン濃度、患者が脾摘を受けたことがあるか等のある種の予後変数が同程度である治療群を得る試みがなされた。無作為化スケジュールは、本試験前に準備された。

20

【0421】

患者は、合計39週間、隔週1回、臨床施設で、合計20回の静脈注入の二重盲検治療薬を受けた。安全性および有効性の評価は、治療相中、一定間隔で行われた。安全性および有効性の最終評価は、41週目の来院時（最終の注入から2週間後）に行われた。

【0422】

安全性は、有害事象（注入関連の有害事象を含む）、併用薬、およびバイタルサインの評価によって、本試験を通して評価された。12リード線心電図、健康診断、臨床検査室試験（血液学、血液生化学検査、および検尿）を含む、さらなる安全性の評価は、13、25、および41週目に行われた。抗ベラグルセラゼアルファ抗体または抗イミグルセラゼ抗体および酵素中和抗体の存在の判定は、41週目までほぼ6週間ごとに行われた。

30

【0423】

有効性は、ヘモグロビン濃度および血小板数、肝体積および脾臓体積、ならびに血漿キトトリオンダーゼおよびCCl₁₈値によって評価された。さらなる有効性の評価には、発育速度およびタナー分類、QoL指標、骨格成長が含まれた。免疫および炎症反応（選択されたサイトカインパラメータによって測定される）は、試験参加時に18歳以上の患者において測定された。本試験における治療の持続期間は、39週間であり、本試験に参加する患者の持続期間は、最長11ヶ月間（スクリーニングから追跡調査まで）であった。本試験を完了した患者は、その後の非盲検の長期臨床試験に登録する機会が与えられ、ここで、全ての患者は、ベラグルセラゼアルファを受けた。その後の非盲検の長期臨床試験の登録に選ばれた患者については、41週目の来院からある種の評価が、その臨床試験のベースライン評価として使用され、患者は、本試験に予定された41週目の手順および評価が終了した後、長期臨床試験のための第1のベラグルセラゼアルファの注入を受けた。したがって、それは、患者が、2つの試験にわたって、継続的な治療を受けることを意味した。本試験を完了したが、その後の長期試験の登録に選ばれなかった患者は、本試験において、最後の注入から30日間後、施設来院または電話による安全性の評価を得た。

40

【0424】

試験集団の選択

50

34人の患者が登録した（17人の患者は、各治療群に割り当てられた）。

【0425】

適格の参加者は、1型ゴーシェ病（白血球中の欠損グルコセレブロシダーゼ活性、または遺伝子型分析によって）、および疾患関連の貧血（年齢および性別による地域の試験所の正常値の下限を下回るヘモグロビン値）と診断された、2歳以上の男性または女性であった。参加者はまた、触診による少なくとも中度の脾腫（左肋骨縁から2～3 cm以下）、疾患関連の血小板減少症（血小板数 $<120 \times 10^3$ 血小板/mm³）、または容易に触診可能な肥大肝のうちの1つ以上があった。参加者は、試験に参加する前の12ヶ月以内にゴーシェ病の治療を受けることができなかった。

【0426】

参加者は、脾摘を受けた場合、2型あるいは3型ゴーシェ病に罹患した（または罹患している疑いがあった）場合、抗体陽性があった、またはイミグルセラゼに対してアナフィラキシー性ショックを経験したことがある場合、除外された。他の除外基準には、試験に参加する前の30日以内に、あらゆる非ゴーシェ病関連の治療薬またはデバイスによる治療；HIV、またはB型肝炎もしくはC型肝炎に対する陽性試験；悪化した貧血（ビタミンB12、葉酸、または鉄欠乏性関連）、または試験データに影響を及ぼし得るあらゆる有意な併存疾患が含まれた。妊娠または授乳中の女性は、除外され、出産する可能性がある女性は、常に、医学的に許容される避妊方法を用いることを必要とされた。

【0427】

試験治療

治療評価：患者は、39週間、隔週で60 U/kgのベラグルセラゼアルファ（最高16人の患者、20回の注入）、または39週間、隔週で60 U/kgのイミグルセラゼ（最高16人の患者、20回の注入）の初回投与前に、1：1の比率で無作為化された。全ての治療薬は、1時間にわたって静脈内注入により投与され、治療盲検を維持した。

【0428】

治療実施

治療薬の注入：二重盲検治療薬の注入が、継続的な1時間の静脈内注入として、臨床施設で実施され、治療盲検を維持した。治療薬の注入は、その週のほぼ同日に行われたが、患者スケジューリングを促進するために、14日間（±3日）ごとに行われた。

【0429】

用量の算出：二重盲検治療薬の初回投与は、ベースラインでの患者の体重に基づいた。ベースラインから、またはつい最近記録された測定（13週目または25週目）から5%以上の体重の変化は、治療薬の用量の再算出の必要がある。

【0430】

治療薬の説明

ベラグルセラゼアルファ：ベラグルセラゼアルファは、臨床試験施設に供給され、出荷され、2～8℃で貯蔵される、凍結乾燥製品であった。

【0431】

イミグルセラゼ（Cerezyme（登録商標））：イミグルセラゼ（Cerezyme）は、滅菌の、非発熱性の白色からオフホワイト色の凍結乾燥製品として供給された。

【0432】

試験手順およびデータ収集方法

試験参加基準：スクリーニングで、患者は、試験参加基準に対する適格性についての再調査が行われた。試験参加基準を満たさなかった患者は、スクリーニング不適応と見なされた。

【0433】

適格性の確認：スクリーニングで、患者は、試験の適格性を判定するために、ヘモグロビン濃度を測定するための血液試料を提供した。年齢および性別による地域の試験所の正常値の下限を下回るヘモグロビン濃度を有するこれらの患者のみが、登録に適した。

10

20

30

40

50

【0434】

ベースラインで、患者は、彼らのヘモグロビン濃度が、年齢および性別による地域の試験所の正常値の下限を下回ることを確認するために、血液試料を提供した。スクリーニングおよびベースラインの両方で、年齢および性別による正常値の下限を下回るヘモグロビン濃度を有するこれらの患者のみが、本試験に適していることを確認した。

【0435】

遺伝子型：全ての患者は、ゴーシェ病の遺伝子型および血漿キトトリオシダーゼの遺伝子型のためのスクリーニングで血液試料を提供した。

【0436】

病歴：スクリーニングで、患者の完全な病歴を記録した。これには、体組織の再評価、現行および先行の医療手順の文書化、ならびに現行および先行の併用薬の使用の文書化、ならびに患者が、試験に参加する前の12ヶ月以内にゴーシェ病の治療を受けなかったという文書が含まれた。

【0437】

バイタルサイン：記録されたバイタルサインパラメータには、脈拍、血圧、呼吸速度、および体温が含まれた。以下のスケジュールは、注入の来院でバイタルサインを記録するために追跡した。注入開始（注入を開始する前の10分以内）、注入中（30分（±5分））、注入後（注入が完了してから5分、30分（±5分）、および60分±5分）以内）。スクリーニングで、ベースラインおよび41週目のバイタルサインは、1回の時点でのみ収集された。

【0438】

健康診断：健康診断は、スクリーニング、ベースライン、ならびに試験13、25、および41週目に、実施された。健康診断には、全体的な様子、内分泌物、頭頸部、心臓血管、眼、腹部、耳、非尿生殖器、鼻、皮膚、喉、筋骨格、胸部および肺、ならびに神経系が含まれた。身体所見のあらゆる異常変化は、適切なCRFページの有害事象として記録した。

【0439】

身長および体重：身長および体重は、ベースライン、ならびに試験13、25、および41週目に、記録した。小児患者（すなわち、2～17歳）については、身長および体重の評価を使用して、発育速度を判定した。

【0440】

12リード線心電図：12リード線心電図は、ベースライン、ならびに試験13、25、および41週目に実施され、これには、PR、QRS、QT、およびQTc間隔、ならびに心拍数の評価が含まれた。

【0441】

臨床検査室試験：血液および尿試料は、臨床検査室試験について以下に記載されるように収集した。

【0442】

血液学：血液試料は、統計分析のためのヘモグロビン値を測定するために、スクリーニング中、およびベースラインで収集された。血液試料はまた、完全血液学試験のために、スクリーニング、ベースライン、ならびに13、25、および41週目に収集された。以下の血液学パラメータは、差動による完全血球算定（CBC）、血小板数、活性化部分トロンボプラスチン時間（aPPT）、網状赤血球数（臨床施設の地域検査室によって分析され、報告された）、およびプロトロンビン時間（PT）を評価した。スクリーニング、ベースライン、ならびに毎回の試験の来院時（1週目の来院を除く）に、血液試料は、ヘモグロビン濃度および血小板数を測定するために収集した。

【0443】

血液生化学検査：血液試料は、スクリーニング時、ベースライン時、ならびに試験13、25、および41週目に、血清生化学検査のために採血された。以下の血液生化学検査パラメータは、ナトリウム、アラニンアミノトランスフェラーゼ、カリウム、アスパラギ

ン酸アミノトランスフェラーゼ、グルコース、乳酸脱水素酵素、全カルシウム、ガンマグルタミン酸転移酵素、総タンパク質、クレアチニンホスホキナーゼ、アルブミン、NTx※、クレアチニン、CTx※、尿素窒素、葉酸（試験の適任性を判定するため）、総ビリルビン、ビタミンB₁₂（スクリーニングのみ）、アルカリ性ホスファターゼ※を評価した（※の結果は、骨バイオマーカーの評価のために使用された）。スクリーニングで、葉酸および／またはビタミンB₁₂欠損関連の貧血を有した患者、および試験酸化基準を満たさなかった患者は、スクリーニング不適格と見なされた。

【0444】

尿検査：尿試料は、スクリーニング、ベースライン、ならびに試験13、25、および41週目に尿検査のために収集された。以下の尿検査パラメータは、pH、巨視的評価、および微視的評価を評価した。

10

【0445】

血清抗ペラグルセラーゼアルファ抗体：患者は、スクリーニング、ならびに治療相中、ほぼ6週間おき（7、13、19、25、31、および37週目）、および41週目に、血清中の抗ペラグルセラーゼアルファ抗体を測定するために血液試料を提供した。治療相中、これらの血液試料は、二重盲検に治験薬の注入前に収集された。

【0446】

抗ペラグルセラーゼアルファ抗体の判定のために収集された血液試料を評価した。これらの試料は、抗体連結型免疫吸着アッセイ（ELISA）を用いてスクリーニングし、全ての陽性試料は、放射性免疫沈降法（RIP）を用いて陽性であることを確認した。陽性試料は、アイソタイプ（IgG、IgA、IgM、またはIgE）であった。加えて、陽性試料は、インビトロアッセイを用いて、酵素中和活性について試験した。

20

【0447】

血清抗ペラグルセラーゼアルファ抗体の判定：患者は、抗イミグルセラーゼ抗体を測定するために、スクリーニング時に血液試料を提供した。抗イミグルセラーゼ抗体分析は、抗ペラグルセラーゼアルファ抗体分析のために得た同じ試料を用いて実施した。

【0448】

これらの血液試料は、抗イミグルセラーゼ抗体の存在を判定するために評価された。これらの試料は、抗体連結型免疫吸着アッセイ（ELISA）を用いてスクリーニングし、全ての陽性試料は、放射性免疫沈降法（RIP）を用いて陽性であることを確認した。陽性試料は、アイソタイプ（IgG、IgA、IgM、またはIgE）であった。加えて、陽性試料は、インビトロアッセイを用いて、酵素中和活性について試験した。

30

【0449】

スクリーニング時に、抗イミグルセラーゼ抗体に対して陽性反応を示す患者は、本試験には適さなかった。

【0450】

抗体交差反応試験（ペラグルセラーゼアルファに対する）は、本試験中、抗イミグルセラーゼ抗体を形成する患者に対して実行した。

【0451】

免疫および炎症反応試験：18歳以上の患者は、ベースライン、ならびに13、25、および41週目に、免疫および炎症反応試験のために血液試料を提供した。1つの試料は、ベースラインで得た。13、25、および41週目に、試料は、治験薬を用いた各注入前、注入直後、および注入から1時間後に得た。

40

【0452】

有害事象：有害事象は、本試験を完了し、その後の長期の非盲検臨床試験の登録に選ばれなかった患者、または41週目の来院前に、本試験を中断、または中止した患者について、インフォームドコンセントから最終の注入から30日後までの試験を通してモニタリングされた。本試験を完了し、かつその後の非盲検の長期臨床試験の登録に選ばれなかった患者については、有害事象は、インフォームドコンセントから41週目の来院までモニタリングした。

50

【0453】

注入関連の有害事象の抑制：タンパク質の注入は、注入物への応答と関連があり得る。注入関連の有害事象は、1) 注入中、あるいは注入を開始してから12時間以内に始まる、および2) 盲検治験薬への関連の可能性あり、または多分関連ありと判断される、有害事象として定義される。

【0454】

肝臓および膵臓のMRI：患者は、ベースライン、25週目および41週目／試験終了時で、肝臓および膵臓のMRIを受けた。肝臓および膵臓の大きさは、定量的含むMRIを用いて測定した。

【0455】

血漿キトトリオシダーゼ値：血液試料は、ベースライン、ならびに1、5、9、13、17、21、25、29、33、37、および41週目に、血漿キトトリオシダーゼ値の評価のために収集された。キトトリオシダーゼは、酵素活性アッセイを用いて分析した。

【0456】

血漿CCL18値：血液試料は、ベースライン時、ならびに1、5、9、13、17、21、25、29、33、37、および41週目に、血漿CCL18値の評価のために収集された。CCL18値は、市販のキットにおいて、抗体連結型免疫吸着アッセイ(ELISA)によって測定された。

【0457】

生活の質試験：ベースライン時および41週目での患者の生活の質は、18歳以上の患者に対しては、Short Form 36(SF-36)、バージョン2、および5～17歳の患者に対しては、小児健康調査票(CHQ)、PF50を含む、有効な質問表を用いて評価した(Ware Arch Phys Med Rehabil Vol 84, Suppl 2, April 2003:43-51、SF-36 v2TM Health Survey 1996, 2000 by QualityMetric Incorporated and Medical Outcomes Trust. All Rights Reserved、Landgraf et al. Child Health Questionnaire: A User's Manual. 2nd printing, Health Act, Inc., Boston MA, 1999、Landgraf et al. Quality of Life Research. 1998; 7(5):433-445)。

【0458】

発育速度およびタナー分類：2～17歳の患者の発育は、ベースライン時、ならびに13、25、および41週目に評価した。発育速度は、本試験中の一定の時点で記録した身長および体重測定を用いて算出され、タナー分類と相関させた。タナー分類は、ベースライン時、ならびに13、25、および41週目に記録した。各治療群における、2～17歳の患者のベースラインからの変化は、第3の有効性パラメータとして評価された。

【0459】

骨格成長：2～17歳の患者は、骨年齢の評価のために、ベースライン時および41週目に、左手および手首のX線撮影を行った。

【0460】

骨バイオマーカー：ベースライン時および41週目に、18歳以上の患者は、ゴージェ病関連の局所および全身骨疾患を判定するために、冠状断撮像を含む、腰椎および大腿骨頸のDXAを行った。骨量の減少および脱塩は、ベースライン時および41週目に、血清アルカリ性ホスファターゼ、NTx、およびCTXを測定することによって判定された。

【0461】

2～17歳の患者については、大腿骨頸および腰椎のMRIは、これらの患者は、肝臓および膵臓のMRIを行うと同時に、ベースラインおよび41週目に得た。

【0462】

本試験中、これらのパラメータに対していかなる治療効果が明らかとなることも期待さ

10

20

30

40

50

れなかったが、ベースラインおよび41週目で収集された測定値は、その後の非盲検の長期臨床試験中に、これらのバイオマーカーをモニタリングするための参照点を確立するために利用されるだろう。

【0463】

既存および併存の病気：ベースラインで存在するさらなる病気は、併存する病気として見なされ、病歴のCRFの適切なページに文書化された。初発するか、もしくは本試験中検出される病気、または本試験中併存する病気の悪化は、有害事象として見なされ、CRF等に文書化された。

【0464】

患者は、本試験のいずれの時点でも、または最後の注入後30日以内に、赤血球成長因子または治験薬もしくはデバイスをを用いた治療を受けなかった。

【0465】

本試験の治療相の間、患者は、考えられる注入関連の有害事象を軽減するために、前投薬としてコルチコステロイドを受けた可能性がある。

【0466】

有害事象

有害事象の定義：有害事象（AE）は、身体的兆候、症状、および／または臨床試験のいかなる相に生じる検査室での変化によって示されるような、治験薬関連であると見なされるか、または見なされないにかかわらず、解剖学的、生理学的、または代謝機能の任意の有毒な、病理、または意図的ではない変化である。これには、先行する状態の再燃が含まれる。有害事象は、患者が署名済みのインフォームドコンセントを提出した時から、盲検治験薬の最終投与から30日後まで、および／または事象が消散する／安定化される、あるいは成果を達するまで、いずれか早い方で収集された。41週目の来院前に、中断した、または中止した患者の有害事象は、最終注入から最長30日まで追跡調査した。本試験を完了し、かつ長期臨床試験の登録に選ばれた患者の有害事象は、患者がインフォームドコンセントを提出した時から41週目の来院までモニタリングした。

【0467】

有害事象には、本試験の開始時に存在する状態の悪化（性質の変化、重症度、または頻度）；病気の併発；薬物間相互作用；併用薬に関連する、または関連する可能性がある事象；異常な検査室での値（これは、治験責任医師が臨床的に重要であると見なす正常の範囲内でベースラインからの有意な推移を含む）；健康診断、バイタルサイン、体重、およびECGの臨床的に有意な異常を含む。

【0468】

加えて、有害事象はまた、著しく範囲外になり、治験責任医師によって臨床的に有意であると判定された予期しない検査室での値も含み得る。予期しない範囲外の値の事象では、検査試験は、それが正常値に戻るまで、または患者の安全性には危険性がないことが説明され得るまで繰り返される。

【0469】

注入関連の有害事象の定義：注入関連の有害事象は、1）注入中、あるいは注入を開始してから12時間以内に始まる、および2）盲検の治験薬への関連の可能性あり、または多分関連ありと判断される、有害事象として定義された。注入前に実施された、プロトコル定義された試験および評価（例えば、検査室試験、ECG、および健康診断）と関連する有害事象と同様に、注入前に生じた他の有害事象は、注入関連の有害事象として定義されなかった。

【0470】

重篤有害事象の定義：重篤有害事象（SAE）は、以下の結果のいずれかをもたらす任意の用量で生じる任意の有害事象である：死亡、生命にかかわる、入院を必要とする、既存の入院の延長を必要とする、持続的もしくは重大な障害／不能、および先天異常／出生異常。

【0471】

死亡に至らないかもしれない、生命にかかわる、または入院を必要とする重大な医療事象は、適切な医療判断に基づき、患者を危険にさらし、上記の結果のうちの1つを防止するために医療または手術の介入を必要とする場合に、重篤有害事象として見なされる場合がある。

【0472】

生命にかかわる有害事象は、最初の報告者の観点から、それが生じた際、その有害事象から直接死の危険性に患者を置く有害事象として定義される（すなわち、さらに重症な状態で生じた場合、死を招いたかもしれない有害事象は含まない）。

【0473】

有害事象と重篤有害事象の分類：国立癌研究所共通毒性基準（National Cancer Institute Common Toxicity Criteria、NCI CTC）Version 3.0の評価尺度を、有害事象の重症度を評価する場合に参照した。有害事象が、NCI CTCに記載されなかった場合、重症度は、以下の尺度に基づいて記録された。全ての有害事象／重篤有害事象の重症度は、それぞれ、軽度、中度、重度、または生命にかかわるの重症度に相当するグレード1、2、3、または4として、適切なCRFページに記録した。グレード1（軽度）は、日常活動には支障がないとして定義される。グレード2（中度）は、日常活動にいくつかの支障があるとして定義され、グレード3（重度）は、日常活動を行うことができないとして定義され、グレード4（生命にかかわる）は、死への直接の危険性があるとして定義される。

【0474】

盲検治験薬との有害事象または重篤有害事象の関係は、以下の定義に基づいて治験責任医師によって判定された。「関連なし」とは、治験薬とは関連がないとして定義される。

「関連の可能性あり」とは、治験薬の投与への妥当な時間系列がある臨床事象／検査所見の異常として定義されるが、これは、併発症または他の薬物／化学物質によっても説明され得る。「多分関連あり（Probably related）」とは、治験薬の投与への妥当な時間系列がある臨床事象／検査所見の異常として定義されるが、併発症または他の薬物および化学物質に起因する可能性は低く、投与中止（dechallenge）における臨床的に妥当な反応が起こる。臨床事象／検査所見の異常の関連性はまた、少なくとも理論的基礎において、いくつかの生物学的妥当性を有さなくてはならない。

【0475】

重篤と重度との明確化：「重度」という用語は、しばしば、特定の事象の強度（重症度）（軽度、中度、または重度の心筋梗塞等の場合）を説明するために使用されるが、事象それ自体は、比較的規模の小さい医学的意義（重度の頭痛等）である場合がある。これは、「重篤」とは同じではなく、通常、生命の危険または生活機能（functioning）を脅かすものをもたらす事象と関連する結果または作用基準に基づく。重篤度（重症度ではない）および因果関係は、規制報告義務を定義するための指針としての役割を果たす。

【0476】

有害事象のモニタリングおよび観察期間：本試験の目的のための観察期間は、患者がインフォームドコンセントを提出した時から、本試験の患者の最終評価まで延長された。安全性の目的のための最終評価は、本試験を完了し、長期試験の登録に選ばれなかった患者、または41週目の来院前に本試験を中断した、もしくは中止した患者のための、最後の注入から約30日後に実施される試験後の安全性評価として定義された。本試験を完了し、かつ長期臨床試験の登録に選ばれた患者については、有害事象は、患者がインフォームドコンセントを提出した時から41週目の来院までモニタリングした。治験責任医師は、観察期間の終了後、試験患者における有害事象を報告する必要があると見なした場合、医師は、いかに有害事象を文書化し、報告すべきかを判断するため、治験依頼者に連絡する。

【0477】

統計的方法：

一般的な統計的方法：有効性の統計分析のための2つのデータセット：1) 包括解析 (ITT) データセットおよび2) パープロトコル (PP) データセットが考えられた。ITT データセットは、少なくとも1回の完全または部分的な治験薬の投与を受けた全ての無作為化した患者から構成される。PP データセットは、ITT データセットのサブセットであり、これには、本試験を41週間完了し、ベースラインおよび41週目の両方の一次有効性変数の測定値を収集し、予定された注入の投与のうちの少なくとも80%を受けた患者が含まれる。

【0478】

連続分布に従う変数については、表にまとめた要約は、n、平均、標準偏差、最小値、最大値、および中央値から構成された。主要な有効性変数のグラフは、治療群によって示された。カテゴリ変数については、表にまとめた要約は、治療群別の各カテゴリにおける頻度および割合を示すものから構成された。一次有効性変数は、治療群別に示され、これには、そのままの値：もともと報告された尺度の未変換の変数値；ベースラインからの値の絶対変化、すなわち、 $X - B$ (Bは、ベースライン値であり、Xは、ベースライン後の値である)；およびベースラインからの値の変化率、すなわち、 $100 * (X - B) / B$ (Bは、ベースライン値であり、Xは、ベースライン後の値である)が含まれる。

【0479】

仮説検定：本試験は、ベラグルセラゼアルファの効果とイミグルセラゼを比較した。本目的は、ベラグルセラゼアルファが、0.025の有意水準で、少なくともイミグルセラゼと同様に臨床的に良好であることであった。

【0480】

一次有効性のエンドポイントについての帰無仮説は、ベラグルセラゼアルファにおけるベースラインから41週目までのヘモグロビン濃度の平均変化が、イミグルセラゼにおけるベースラインから41週目までのヘモグロビン濃度の平均変化よりも少なくとも1 g/dL下回るというものである。検定すべき仮説は、

$$H_0: \mu_{Vela} - \mu_{IMI} \leq -1 \quad \text{vs.} \quad H_A: \mu_{Vela} - \mu_{IMI} > -1$$

または

H_0 : ベラグルセラゼアルファは、平均ヘモグロビン応答に関して劣性である。

【0481】

H_A : ベラグルセラゼアルファは、平均ヘモグロビン応答に関して非劣性である、として提示することができる。

【0482】

スクリーニング不適格および患者の処分：本試験に登録するためにスクリーニングされた全ての患者の処分が、スクリーニング不適格の理由とともに示された。全ての無作為化した患者の処分は、治療群および来院別に表に示し、中断の理由は治療群別に表に示した。

【0483】

サンプルサイズの正当化：各治療群の試料サイズが、14人である場合、2つの群の0.025の片側t検定は、平均差が、-1超であるという代替の仮説を支持して、ヘモグロビンの平均差が、-1 g/dL以下であるという帰無仮説を排斥する80%の検出力を有し、これは、予期された平均差は、0であり、一般的な標準偏差は、0.90であると仮定する。

【0484】

15%がドロップアウトすると仮定すると、合計32人の患者（治療群当たり16人の患者）を、本試験に登録した。

【0485】

有効性分析

解析集団：2つのデータセットは、有効性の統計分析のためであると考えられた（包括解析 (ITT) データセットおよびパープロトコル (PP) データセット）。

【0486】

一次有効性分析：一次有効性エンドポイントは、2つの治療群間でのベースラインから41週目までのヘモグロビン濃度の平均変化である。一次分析は、ITT集団を用いて実行された。これは、ベラグルセラゼアルファが、1型ゴーシェ病に罹患する患者を治療する際の有効性に関して、イミグルセラゼより劣っていないことを示すように設計された非劣性無作為化対照臨床試験である。

【0487】

片側97.5%信頼区間を使用した。非劣性は、片側信頼区間、あるいは、イミグルセラゼ治療の差が、低等価の限界よりも大きいという代替物に対して、治療差が、ヘモグロビンの低等価の限界以下 (-1 g/dL) であるという帰無仮説を検定するための仮説検定によって示された。つまり、信頼区間の片側に焦点を絞り、片側97.5%信頼区間 $[(a, \infty)]$ の他の結果を無視し、ここで、 a は、片側信頼区間の下界であり、有効性の結論を出すことができた。

【0488】

二次有効性分析：治療群間でベースラインからの変化を比較する二次有効性パラメータ（血小板数、肝臓および脾臓体積、キトトリオシダーゼ、およびCC18）については、2つの治療群間で、ベースラインから41週目までの平均変化が、統計的に有意である（統計的に有意であるとは、 p 値が0.05を下回るものとして定義される）場合、統計学的検定が、評価された。95%信頼区間は、例えば、共変量としてベースラインの年齢が含まれる、共分散分析（ANCOVA）モデルを用いて、2つの治療群間で、ベースラインからの平均変化の差異について示した。

【0489】

事象結果判定法までの時間（すなわち、ベースラインから 1 g/dL 以上の第1のヘモグロビン応答時間）については、カプランマイヤー（積極限）生存曲線を、各治療群について示し、ログランク検定を使用して、治療群間の曲線を比較した。中央値の時間および95%信頼区間を、各治療群について示した。本試験の終了時（すなわち、41週目）で事象を経験しなかった患者は、41週目で打ち切った。41週目の評価前に中止した、または中断した患者、および中止した、または中断した時に、応答を達成しなかった患者は、その患者の最後の評価を知られる時に打ち切った。加えて、応答対非応答の患者の割合を示し、フィッシャーの正確確率検定（Fisher's Exact Test）を用いて、治療群間で比較した。

【0490】

安全性分析：少なくとも1回の治験薬の投与（または部分的な投与）を受けた全ての患者は、臨床的安全性および耐容性について評価された。安全性パラメータにおける正式な統計的検定は実施されなかった。バイタルサイン、12リード線心電図、臨床化学、血液学、および尿検査の安全性モニタリングを要約した。有害事象等のカテゴリ変数については、各有害事象を経験している患者数および割合を表に示した。有害事象を、事象の重症度別に要約した。薬物関連の有害事象を経験している患者数および割合、ならびに治験薬と関連すると見なされない事象も表示する。臨床検査室評価（血液学、血液生化学検査、尿検査、および抗ベラグルセラゼアルファ抗体への判定）を使用して、ベラグルセラゼアルファの安全性を評価した。

【0491】

実施例4：TKT034試験（イミグルセラゼによる治療から移行した患者における多施設非盲検試験）

要約

本実施例は、イミグルセラゼを以前受けている1型ゴーシェ病に罹患する患者における、ベラグルセラゼアルファの安全性および有効性を分析するための世界的規模の非盲検の12ヶ月間の試験を説明する。2歳以上の患者は、それらの先行のイミグルセラゼ用量と同等の用量で、隔週1時間にわたる注入投与で、ベラグルセラゼアルファを受けた。

10

20

30

40

50

【0492】

40人の患者は、ベラグルセラーゼアルファを受けた（18人の男性；4人 脾摘経験あり；年齢範囲、9～71歳）。先行イミグルセラーゼ使用の中央値は、67ヶ月間（22～192ヶ月間）であった。ベラグルセラーゼアルファ用量は、15～22.5 U/kg（n=14）（「15 U/kg基」）、22.5～37.5 U/kg（n=12）（「30 U/kg基」）、37.5～52.5 U/kg（n=7）（「45 U/kg基」）、および>52.5 U/kg（n=7）（「60 U/kg基」）であった。ベラグルセラーゼアルファは、一般的に、ほとんどの有害事象（AE）が軽度または中度の重症度である、良好な耐容性を示した。11人の患者（28%）は、治験薬への関連の可能性あり、または多分関連あると見なされる有害事象を経験し、その大部分は、注入関連であると思われた。生命にかかわる有害事象を経験した患者はいなかった。1つの重篤有害事象は、治療に多分関連があると思われた：1人の患者は、初回注入中、グレード2の過敏反応があり、本試験を中断することを選択された。この患者は、注入時および2週間後、IgE、IgM、IgG、IgA、および中和抗体に対して陰性を示した。ベラグルセラーゼアルファに対するIgG抗体を形成した患者はいなかった。ヘモグロビン濃度、血小板数、肝臓体積、および脾臓体積は、1年間を通して、治療レベルを持続した。

10

【0493】

結論として、22ヶ月以上の間、イミグルセラーゼにより以前に治療したことがある1型ゴーシェ病に罹患する成人および小児患者は、ベラグルセラーゼアルファへの移行に成功し、12ヶ月を超える臨床疾患手段において安定性があった。

20

【0494】

試験の目的

本試験の第1の目的は、イミグルセラーゼにより以前に治療した1型ゴーシェ病に罹患する患者における、ベラグルセラーゼアルファの隔週投与の安全性を評価することである。

【0495】

第2の目的は、ベラグルセラーゼアルファの隔週投与後のベースラインからのヘモグロビン濃度の変化を評価すること、ベラグルセラーゼアルファの隔週投与後のベースラインからの血小板数の変化を評価すること、およびベラグルセラーゼアルファの隔週投与後の腹部MRIによる、ベースラインからの肝体積および脾臓体積の変化を評価することであった。

30

【0496】

第3の／予備的な目的は、ベラグルセラーゼアルファの隔週投与後のベースラインからの血漿キトトリオシダーゼおよびケモカイン（C-Cモチーフ）リガンド18（CCL18）のレベルの変化を評価すること、ベラグルセラーゼアルファの隔週投与後のベースラインからの左手および手首のX線撮影による、2～17歳の患者の骨年齢の変化を評価すること、ベラグルセラーゼアルファの隔週投与後の2～17歳の患者の発育速度およびタナー分類の変化を評価すること、腰椎および大腿骨頸の骨密度（DXA）（冠状断撮像を含む）、血清アルカリ性ホスファターゼ、N-テロペプチド架橋（NTx）、およびC-N-テロペプチド架橋（CTx）によって測定されるように、18歳以上の患者のゴーシェ病関連の局所および全身性骨疾患における、ベラグルセラーゼアルファ療法の長期効果をモニタリングするためのベースラインを確立すること、ならびに腰椎および大腿骨頸のMRIにより、2～17歳の患者における、骨疾患を評価するためのベースラインを確立することであった。

40

【0497】

全般的試験設計

これは、I型ゴーシェ病のイミグルセラーゼ療法を現在受けている患者のためのベラグルセラーゼアルファ療法の安全性を評価するために設計された、多施設第II／III相非盲検試験である。イミグルセラーゼ用量と同じ単位数のベラグルセラーゼアルファを受けるために、41人の患者が登録された。用量は、15 U/kg～60 U/kgの範囲で

50

あった。患者は、試験登録前の6ヶ月間、同用量のイミグルセラゼを受けていた。各患者の試験の全持続期間は、約14ヶ月間（スクリーニングから試験終了および／または必要に応じて、追跡調査まで）であった。

【0498】

本試験は、以下の通りの5つの相から構成された。スクリーニング（-14日目～-4日目）、ベースライン（-3日目～0日目（初回投与前））、治療相：1週目（1日目；初回投与）から51週目（合計26回の注入が、患者ごとに実施された）まで；試験終了の来院：53週目、追跡調査：最終注入から30日間後（53週目の評価前に中断／中止した患者について、または本試験は完了したが、その後の長期臨床試験の登録に選ばれない患者について）。

【0499】

書面によるインフォームドコンセントを提出した患者（または親／法的保護者）は、患者の登録の適格性を判定するために、初回投与前の2週間以内にスクリーニング評価を行った。試験の適格性を判定するために、血液試料は、ヘモグロビン濃度および血小板数を評価するために、スクリーニング中、各患者から収集した。

【0500】

さらなる血液試料は、統計分析の目的のためのヘモグロビン濃度および血小板数の評価のためのスクリーニング中、収集された。

【0501】

治験薬の初回用量の投与は、1週目（1日目）として定義された。ベラグルセラゼアルファ注入は、合計26回の注入で、12ヶ月間（51週間）、隔週投与された。患者は、イミグルセラゼ用量と同じ単位数のベラグルセラゼアルファを受けた。用量は、15 U/kg から60 U/kg の範囲であった。注入時間は、60分間（1時間）であった。注入持続期間の増加（例えば、2時間）は、ソースの文書化および適切なCRFにおいて文書化された。注入は、持続時間において、1時間未満ではなかった。

【0502】

各患者への初めの3回のベラグルセラゼアルファ注入が臨床施設で投与された。治療関連の重篤有害事象またはベラグルセラゼアルファ注入関連の有害事象を経験しなかった患者は、治験責任医師の裁量および指示によって、資格のある訓練を受けた医療関係者によって、在宅でその後の注入を受けてもよい。注入関連の有害事象を経験した患者は、在宅注入への移行を考慮するための試験中、後の時点で再評価され得る。在宅療法としてベラグルセラゼアルファを受けている患者は、7、13、19、25、31、37、45、51、および53週目に、臨床施設に戻る必要があった。

【0503】

本試験完了の来院は、53週目として定義される。患者は、1）51週目の治療期間が完了する、ならびに2）51週目および53週目に、本試験の来院を完了すると、本試験が完了したと見なされた。

【0504】

本試験を完了した患者は、その後の長期非盲検臨床試験に登録する機会を与えられた。その後の長期非盲検臨床試験の登録に選ばれた患者については、本試験（TKT034）のための51週目および53週目の来院からのある種の評価は、その試験のベースライン評価として使用され、患者は、53週目の来院時に、その来院についての全ての評価が完了し、その後の長期非盲検臨床試験に参加するための書面によるインフォームドコンセントを提出した後、その後の長期非盲検臨床試験のための初回注入を受ける。したがって、それは、患者が、2つの試験にわたって、継続的なベラグルセラゼアルファ治療を受けることを意味した。本試験を完了したが、その後の長期非盲検臨床試験の登録に選ばれなかった患者は、それらの最後の注入から30日後、施設来院または電話による安全性の評価（有害事象および併用薬の収集のため）を得る。

【0505】

試験集団の選択

10

20

30

40

50

少なくとも1回の注入（または部分的な注入）を受けた全ての登録患者は、ITT患者集団に含まれた。

【0506】

適格な参加者は、1型ゴーシェ病（白血球中の欠損グルコセレブロシダーゼ活性、または遺伝子型分析によって）であると診断され、継続的に最低30ヶ月間イミグルセラゼによる一貫した治療を受けた、2歳以上の男性または女性であり、1人の患者は、イミグルセラゼによる継続的に22ヶ月間の参加が認められた。

【0507】

参加者が、10 g/dL以下のヘモグロビン濃度および 80×10^3 血小板/mm³以下の血小板数の両方を有した場合、スクリーニング前の6ヶ月間、不安定なヘモグロビン濃度（スクリーニング値の ± 1 g/dLの範囲を超える）または血小板数（スクリーニング値の $\pm 20\%$ を超える）を有した場合、；2型または3型ゴーシェ病を有した（または有する疑いがあった）場合、イミグルセラゼに対するアナフィラキシーショックを経験した場合、試験に参加する前の6ヶ月間に、イミグルセラゼによる一貫性のない治療を有する、もしくはミグルスタットを受けたことがある場合、またはスクリーニングの12ヶ月以内に、放射能で確認された活性のある臨床的に有意な脾臓感染もしくは骨の壊死の悪化を有した場合、参加者は、除外された。

【0508】

他の除外基準には、試験に参加する前の30日間以内に、あらゆる治療薬またはデバイスによる治療；HIV、またはB型肝炎もしくはC型肝炎に対する陽性試験；スクリーニング時、非ゴーシェ病関連の貧血、または試験データに影響を及ぼし得るあらゆる有意な併存疾患が含まれた。妊娠または授乳中の女性は、除外され、出産する可能性がある女性は、常に、医学的に許容される避妊方法を用いることを必要とされた。

【0509】

試験治療

治療評価：患者は、彼らのイミグルセラゼ用量と同じ単位数で、隔週ベラグルセラゼアルファ注入を受けた。患者の現在のイミグルセラゼ用量を、ベースラインで記録した。ベラグルセラゼアルファ用量は、15 U/kg～60 U/kgの範囲であった。

【0510】

治療スケジュール：患者は、1週目（1日目）に初回注入を受けた。全ての患者は、12ヶ月間（51週間）、隔週1回、ベラグルセラゼアルファを受けた；したがって、合計26回の注入を投与するものとする。

【0511】

ベラグルセラゼアルファの全ての用量は、1 U/kg/分間の最大速度で、継続的静脈内注入として投与された。注入時間は、60分間（1時間）であった。注入持続期間の増加（例えば、2時間）は、ソースの文書化および適切なCRFにおいて文書化された。注入は、持続時間において、1時間未満でないかもしれない。患者は、試験に参加する前の最長30日間、および試験に参加する前の最短14日間、最終イミグルセラゼ用量を受けた。

【0512】

用量の算出：ベースラインから、または13、25、または37週目に用量を算出するために使用された体重の5%以上の体重の変化は、治療薬の用量の再算出の必要があった。

【0513】

用量の調節：患者は、臨床的パラメータ（すなわち、ヘモグロビン濃度、血小板数、肝体積、および脾臓体積）の変化について、治療期間を通してモニタリングされた。患者が、これらのパラメータの臨床的に有意な変化を示した場合、試験責任医師は、15 U/kgまで患者の用量を増加させるためのオプションを評価した。以下の4つのうち2つ以上の基準を満たし、2つを超える継続的な評価が一貫した場合、用量の調節が、認められた。1 g/dL超のヘモグロビン濃度のベースラインからの減少；20%超の血小板数のベ

10

20

30

40

50

ースラインからの減少；臓器の触診によって示されるような、およびMRIによって測定される場合、ベースラインと比較して15%超であることが確認されるような、肝体積の増加；ならびに、臓器の触診によって示されるような、およびMRIによって測定される場合、ベースラインと比較して15%超であることが確認されるような、脾臓体積の増加。

【0514】

臨床パラメータ値が、3ヶ月以内にベースライン値まで戻らなかった場合、治験責任医師は、15U/kgの増加量まで用量を増加させる選択肢があった。60U/kgの用量を受けている患者に提供される用量の増加はなく、60U/kgを超える用量は、許容されなかった。患者が、60U/kgの最大用量に対して応答しない場合、この患者は、治験責任医師の臨床上の判断に基づいて、適切であると見なされる場合、中止する場合があります。

10

【0515】

ベラグルセラーゼアルファ投与

ベラグルセラーゼアルファ投与用の一般的な取扱説明書：ベラグルセラーゼアルファは、静脈投与した。治験薬注入は、その週のほぼ同日に行われたが、患者スケジューリングを促進するために、標的日の14日（±3日）ごとに行われる場合がある。もし可能であるならば、欠損した注入は避けるべきである。患者は、予定された投与から17日間以内に投与されなかった場合、この患者は、本試験において継続することが患者に対する承認後、できるだけ早く次の注入を受ける。前回の注入から早くとも7日後に、次の注入を得ることは許容され得る。その後の注入は、元のスケジュールに戻る。

20

【0516】

ベラグルセラーゼアルファ投与用の在宅注入の説明：初めの3回のベラグルセラーゼアルファ注入は、臨床施設で実施された。初めの3回の投与後、治療関連の重篤有害事象または注入関連の有害事象を経験しなかった患者は、在宅でその後の注入を受けてもよい。注入関連の有害事象を経験した患者は、在宅注入への移行を考慮するための試験中、後の時点で再評価され得る。在宅療法としてベラグルセラーゼアルファを受けている患者は、7、13、19、25、31、37、45、51、および53週目に、臨床施設に戻る必要があった。

30

【0517】

在宅設定では、バイタルサインおよび有害事象の文書化は、各来院時に収集された。

【0518】

注入関連の有害事象の抑制：注入関連の有害事象は、1) 注入中、あるいは注入を開始してから12時間以内に始まる、および2) 治験薬への関連の可能性あり、または多分関連ありと判断される、有害事象として定義される。

【0519】

治験薬の説明ベラグルセラーゼアルファは、臨床試験施設に正規の供給源によって供給され、出荷され、2～8℃で貯蔵される、凍結乾燥製品であった。

【0520】

ゴーシェ病固有の治療歴：スクリーニング時での、患者の現行のイミグルセラーゼ投与を含む、全てのゴーシェ病固有の治療を記録した。患者の初期のベラグルセラーゼアルファ用量は、記録された現行のイミグルセラーゼ用量に基づいた。

40

【0521】

ヘモグロビンおよび血小板の歴史値：試験に参加する前の30ヶ月以内のヘモグロビン濃度および血小板数の全ての評価が収集され、患者の適格性を判定するために再調査を行った。

【0522】

ゴーシェ病およびキトトリオシダーゼの遺伝子型：スクリーニング時のみ、全ての患者は、ゴーシェ病および血漿キトトリオシダーゼの遺伝子型のために採血された血液試料があった。

50

【0523】

バイタルサイン：記録されたバイタルサインパラメータには、脈拍、血圧、呼吸速度、および体温が含まれた。

【0524】

以下のスケジュールにより、全ての注入の来院時に、バイタルサインを記録するために追跡調査した。注入開始（注入を開始する前の10分以内）、注入中（30分（±5分））、注入後（注入が完了してから5分以内、注入が完了してから30分（±5分）以内、および注入が完了してから60分（±5分）以内）。

【0525】

健康診断：健康診断は、ベースラインの来院時、ならびに13、25、37、51、および53週目に、実施された。健康診断には、全体的な様子、内分泌物、頭頸部、心臓血管、眼、腹部、耳、非尿生殖器、鼻、皮膚、喉、筋骨格、胸部および肺、ならびに神経系が含まれた。身体所見のあらゆる異常変化は、適切なCRFページの有害事象として記録した。

10

【0526】

身長および体重：身長および体重は、ベースラインの来院時、ならびに13、25、37、および51週目に記録した。発育速度は、身長および体重測定を用いて算出され、タナー分類と相関させた。

【0527】

12リード線心電図：12リード線心電図は、ベースラインの来院時、ならびに13、25、37、および51週目に実施された。各12リード線心電図には、PR、QRS、QT、およびQTc間隔、ならびに心拍数の評価が含まれた。

20

【0528】

臨床検査試験：血液および尿試料は、以下の評価について下に記載されるように収集した。

【0529】

血液学：血液試料は、スクリーニングおよびベースラインの来院時、ならびに7、13、19、25、31、37、45、51、および53週目に収集された。以下の血液生化学検査パラメータは、差動による完全血球算定（CBC）、活性化部分トロンボプラスチン時間（aPPT）、網状赤血球数（施設の地域検査室によって実施された）、血小板数、およびプロトロンビン時間（PT）を評価した。スクリーニング時、ベースライン時、ならびに毎回の試験の来院時（1週目の訪問を除く）、血液試料を、ヘモグロビン濃度および血小板数を測定するために採血した。

30

【0530】

さらなる血液試料は、統計分析の目的のためのヘモグロビン濃度および血小板数の評価のために、スクリーニング中、採血された。

【0531】

血液生化学検査：血液試料は、ベースラインの訪問時、および13、25、37、51、および53週目に、血清生化学検査のために採血された。

【0532】

40

以下の血清化学パラメータは、ナトリウム、総ビリルビン、カリウム、アルカリ性ホスファターゼ*、グルコース、アラニンアミノトランスフェラーゼ、全カルシウム、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、総タンパク質、乳酸脱水素酵素、アルブミン、ガンマグルトアミン酸転移酵素、クレアチニン、クレアチニンホスホキナーゼ、尿素窒素、CTX、NTX*を評価した（*の結果は、骨バイオマーカーの評価のために使用された）。スクリーニング時に、葉酸および／またはビタミンB₁₂欠損関連の貧血を有した患者、および試験酸化基準を満たさなかった患者は、スクリーニング不適格と見なされた。これらの患者は、臨床施設の標準的な業務に従って、治験責任医師の裁量で、最長12週間、葉酸および／またはビタミンB₁₂欠損関連の貧血のために治療され得る。このような患者は、葉酸および／またはビタミンB₁₂治療計画を完了した後、本試験のために再度ス

50

クリーニングされ得る。

【0533】

尿検査：尿試料は、ベースラインの来院時、ならびに13、25、37、51、および53週目に、尿検査のために収集された。以下の尿検査パラメータは、pH、巨視的評価、および微視的評価を評価した。

【0534】

血清抗ベラグルセラゼアルファ抗体の判定：全ての患者は、血清抗ベラグルセラゼアルファ抗体の判定のために、ベースライン時でのみ、血液試料を得た。患者は、彼らの抗イミグルセラゼ抗体状態に関わらず、本試験において、登録に適した。抗イミグルセラゼ抗体陽性であった患者は、本試験に参加することが可能であった。これらの血液試料は、抗イミグルセラゼ抗体の存在を判定するために評価された。

10

【0535】

血清抗ベラグルセラゼアルファ抗体の判定：血液試料は、ベースラインの訪問時、および7、13、19、25、31、37、45、および51週目に、抗ベラグルセラゼアルファ抗体の判定のために採血された。抗ベラグルセラゼアルファ抗体の判定のために採血された血液試料が、評価された。これらの試料は、抗体連結型免疫吸着アッセイ（ELISA）を用いてスクリーニングされた。

【0536】

有害事象：有害事象は、本試験を完了し、その後の長期の非盲検臨床試験の登録に選ばれなかった患者、または53週目の来院前に、本試験を中断、または中止した患者について、患者が署名済みのインフォームドコンセントを提出した時から最終の注入から30日間後までの試験を通してモニタリングされた。本試験を完了したが、その後の長期の非盲検臨床試験の登録に選ばれなかった患者については、有害事象は、インフォームドコンセントから本試験（TKT034）の53週目の来院までモニタリングされた。

20

【0537】

既存および併存の病気：ベースライン時に存在するさらなる病気は、併存する病気として見なされ、CRFの適切な病歴のページに文書化された。初発するか、もしくは本試験中検出される病気、または本試験中併存する病気の悪化は、有害事象として見なされ、CRF等に文書化された。

【0538】

30

有効性評価のための試験手順

ヘモグロビン濃度：ヘモグロビン濃度は、本明細書に記載の時点で測定された。ベースラインから12ヶ月時点までのヘモグロビン濃度の変化は、本試験の第2のエンドポイントであった。

【0539】

血小板数：血小板数は、本明細書に記載の時点で測定された。ベースラインから12ヶ月時点までの血小板数の変化は、本試験の第2のエンドポイントであった。

【0540】

腹部MRIにより測定された肝体積および膵臓体積：患者は、ベースライン時、25週目、および51週目に、肝臓および膵臓の定量的腹部MRIを行った。ベースラインから12ヶ月時点までの肝体積および膵臓体積の変化は、本試験の第2のエンドポイントであった。

40

【0541】

血漿キトトリオシダーゼおよびCC L19値：血液試料は、ベースラインの来院時、ならびに13、25、37、51、および53週目に、血漿キトトリオシダーゼおよびCC L18値の評価のために、採血された。ベースラインから12ヶ月時点までのキトトリオシダーゼおよびCC L18値の変化は、本試験の第3のエンドポイントであった。

【0542】

発育速度およびタナー分類：2～17歳の患者の発育は、本明細書で規定された時点で評価した。発育速度は、本試験中の一定の時点で記録した身長および体重測定を用いて算

50

出し、タナー分類と相関させた。ベースラインから12ヶ月時点までの発育速度よびタナー分類の変化は、本試験の第3のエンドポイントであった。

【0543】

骨格成長：2～17歳の患者は、骨年齢の評価のために、ベースライン時および51週目に、左手および手首のX線撮影を行った。ベースラインから12ヶ月時点までの2～17歳の患者の骨格成長の変化は、本試験の第3のエンドポイントであった。

【0544】

さらなる試験手順

骨バイオマーカー：ベースライン時でのみ、18歳以上の患者は、ゴーシェ病関連の局所および全身骨疾患を判定するために、冠状断撮像を含む、腰椎および大腿骨頸のDXAを行った。骨量の減少および脱塩はまた、血清アルカリ性ホスファターゼ、NTx、およびCTXを測定することによって判定された。これらのパラメータの結果は、ベースライン時でのみ、臨床検査試験のために採血された血液試料から得られた。

【0545】

2～17歳の患者の大腿骨頸および腰椎のMRIは、ベースライン時に得た（すなわち、同時に、患者は、肝臓および脾臓のMRIを行った）。いかなる治療効果が、本試験中、これらのパラメータに対して明らかであることは、期待されず、したがって、測定は、その後の非盲検の長期臨床試験中、これらのバイオマーカーをモニタリングするための参照点を確立するために、ベースライン時でのみ収集された。

【0546】

有害事象

有害事象の定義：有害事象（AE）は、身体的兆候、症状、および／または臨床試験のいかなる相に生じる検査室での変化によって示されるような、治験薬関連であると見なされるか、または見なされないに関わらず、解剖学的、生理学的、または代謝機能の任意の有毒な、病理、または意図的ではない変化である。これには、先行する状態の再燃が含まれる。有害事象は、インフォームドコンセントから、治験薬の最終投与から30日間後まで、および／または事象が消散する／安定化される、あるいは成果を達するまで、いずれか早い方で収集された。53週目の来院前に、中断した、または中止した患者の有害事象は、ベラグルセラゼアルファの最終注入から最長30日まで追跡調査した。

【0547】

有害事象には、本試験の開始時に存在する状態の悪化（性質の変化、重症度、または頻度）；病気の併発；薬物間相互作用；併用薬に関連する、または関連する可能性がある事象；異常な試験所での値（これは、治験責任医師が臨床的に重要であると見なす正常の範囲内でベースラインからの有意な推移を含む）；健康診断、バイタルサイン、体重、およびECGの臨床的に有意な異常を含む。

【0548】

加えて、有害事象はまた、著しく範囲外になり、治験責任医師によって臨床的に有意であると判定された予期しない検査室での値も含み得る。予期しない範囲外の値の事象では、検査試験は、それが正常値に戻るまで、または患者の安全性には危険性がないことが説明され得るまで繰り返される。

【0549】

注入関連の有害事象の定義：注入関連の有害事象は、1）注入中、あるいは注入を開始してから12時間以内に始まる、および2）治験薬への関連の可能性あり、または多分関連ありと判断される、有害事象として定義された。注入前に実施された、プロトコル定義された試験および評価（例えば、検査試験、ECG、および健康診断）と関連する有害事象と同様に、注入前に生じた他の有害事象は、注入関連の有害事象として定義されなかった。注入関連の有害事象は、上記のように抑制された。

【0550】

重篤有害事象の定義：重篤有害事象（SAE）は、以下の結果のいずれかをもたらす任意の用量で生じる任意の有害事象である：死亡、生命にかかわる、入院を必要とする、既

10

20

30

40

50

存の入院の延長を必要とする、持続的もしくは重大な障害／不能、および先天異常／出生異常。

【0551】

死亡に至らないかもしれない、生命にかかわる、または入院を必要とする重大な医療事象は、適切な医療判断に基づき、患者を危険にさらし、上記の結果のうちの1つを防止するために医療または手術の介入を必要とする場合に、重篤有害事象として見なされる場合がある。

【0552】

生命にかかわる有害事象は、最初の報告者の観点から、それが生じた際、その有害事象から直接死の危険性に患者を置く有害事象として定義される（すなわち、さらに重症な状態で生じた場合、死を招いたかもしれない有害事象は含まない）。

10

【0553】

有害事象と重篤有害事象の分類：国立癌研究所共通毒性基準（National Cancer Institute Common Toxicity Criteria、NCI CTC） Version 3.0の評価尺度を、有害事象の重症度を評価する場合に参照した。有害事象が、NCI CTCに記載されなかった場合、重症度は、以下の尺度に基づいて記録された。全ての有害事象／重篤有害事象の重症度は、それぞれ、軽度、中度、重度、または生命にかかわるの重症度に相当するグレード1、2、3、または4として、適切なCRFページに記録した。グレード1（軽度）は、日常活動には支障がないとして定義される。グレード2（中度）は、日常活動にいくつかの支障があるとして定義され、グレード3（重度）は、日常活動を行うことができないとして定義され、グレード4（生命にかかわる）は、直接死の危険性があるとして定義される。

20

【0554】

盲検治験薬との有害事象または重篤有害事象の関係は、以下の定義に基づいて治験責任医師によって判定された。「関連なし」とは、治験薬とは関連がないとして定義される。

「関連の可能性あり」とは、治験薬の投与への妥当な時間系列がある臨床事象／検査所見の異常として定義されるが、これは、併発症または他の薬物／化学物質によっても説明され得る。「多分関連あり（Probably related）」とは、治験薬の投与への妥当な時間系列がある臨床事象／検査所見の異常として定義されるが、併発症または他の薬物および化学物質に起因する可能性は低く、投与中止（dechallenge）における臨床的に妥当な反応が起こる。臨床事象／検査所見の異常の関連性はまた、少なくとも理論的基礎において、いくつかの生物学的妥当性を有さなくてはならない。

30

【0555】

重篤と重度との明確化：「重度」という用語は、しばしば、特定の事象の強度（重症度）（軽度、中度、または重度の心筋梗塞等の場合）を説明するために使用されるが、事象それ自体は、比較的規模の小さい医学的意義（重度の頭痛等）である場合がある。これは、「重篤」とは同じではなく、通常、生命の危険または生活機能（functioning）を脅かすものをもたらす事象と関連する結果または作用基準に基づく。重篤度（重症度ではない）および因果関係は、規制報告義務を定義するための指針としての役割を果たす。

40

【0556】

有害事象のモニタリングおよび観察期間：本試験の目的のための観察期間は、患者が署名済みのインフォームドコンセントを提出した時から、本試験の患者の最終評価まで延長された。安全性の目的のための最終評価は、本試験を完了したが、その後の長期非盲検臨床試験の登録に選ばれなかった患者、または53週目前に本試験を中断した、もしくは中止した患者のための、最後の注入から約30日後に実施される試験後の安全性評価として定義された。その後の長期非盲検臨床試験の登録に選ばれた患者の有害事象は、53週目までモニタリングされ；本試験のための53週目の来院現在で消散しなかった有害事象は、その後の長期非盲検臨床試験の患者の病歴に記録された。

【0557】

50

統計的方法：

一般的な統計的方法：包括解析（ITT）患者集団は、少なくとも1回の注入（完全または部分的な注入）を受けた全ての登録患者として定義された。統計的データ解析は、ITT集団において実施された。ベースライン時およびその後の試験の来院時に収集された継続的データは、記述統計学（ n 、平均値、中央値、最小値、最大値、および標準偏差）を用いて要約された。カテゴリデータは、頻度および割合として要約された。記述統計学は、対象属性およびベースライン特性に従って、ITT集団中の全ての患者について示された。

【0558】

第2のエンドポイントの解析（すなわち、臨床パラメータ）は、以下に説明されるように、非劣性仮説に基づいた。

10

【0559】

サンプルサイズの正当化：これは、安全性試験であり、本試験について、単一の第1の安全性結果因子を確認するのは困難であった。しかしながら、有効性パラメータに基づいて選択されたサンプルサイズは、あまり一般的ではない有害事象の評価には好適であった。

【0560】

少なくとも26人の患者の包括は、安全性および耐容性における基本的な情報を提供した。TKT025試験から、6ヶ月間での患者の平均変化は、ベースラインからの有害事象（AE）のいかなる悪化も示さない。一部の患者は、有害事象を消散し、一部の患者は、有害事象を悪化させる。患者が自然変動すると仮定すると、ある1人の患者への悪化が見られる可能性は、11%である。この11%の欠損率は、1人の患者についてのものである。本試験における26人全ての患者が、重篤有害事象を有さないという尤度は、重篤有害事象を有さない患者1の尤度、かけることの重篤有害事象を有さない患者2の尤度、かけることの（...等...）重篤有害事象を有さない患者26の尤度と等しい。それは、26人のうちの少なくとも1人の患者が、ベースラインから有害事象の悪化を示す、95%の尤度である $[1 - (.89)^{26} = 0.95]$ 。言い換えれば、事象の確率が、0.11である場合、26人のサンプルサイズの少なくとも1つの事象を観察する確率は、0.95である。そうでなければ、事象が観察されない場合、95%の信頼区間において、稀な事象の確率に対して、0.11の上限を得るためには、26人のサ

20

30

【0561】

帰無仮説は、それぞれの選択された臨床パラメータ（ヘモグロビン濃度、血小板数、肝体積、および脾臓体積）のベースライン（すなわち、イミグルセラーゼ治療終了）から12ヶ月時点までの平均変化が、事前に指示された臨床的に有意な値内であるというものである。ヘモグロビンのベースラインから53週目までの臨床的に有意な変化は、1 g m/d L以上の変化、および血小板数の20%の変化として定義された。正規化した肝体積および脾臓体積のベースラインから53週目までの変化は、15%以下の増加として定義された。26人の患者のサンプルサイズの推定値は、0.671の標準偏差、0.05の両側アルファ水準および80%検出力を有する、対応のあるt検定の平均値に基づいた。

40

【0562】

一次解析：少なくとも1回の完全なまたは部分的な治験薬の投与を受けた全ての患者は、臨床的安全性および耐容性について評価された。安全性モニタリングのために収集されたバイタルサイン、臨床化学、および血液学は、各患者について記載され、異常値をフラグ化した。有害事象等のカテゴリ変数については、各有害事象を経験している患者数および割合を表に示した。有害事象を、事象の重症度別に要約した。薬物関連の有害事象を経験している患者数および割合、ならびに治験薬と関連すると見なされない事象も表示した。注入関連の有害事象反応および抗ベラグルセラーゼアルファ抗体形成の速度も要約した。

【0563】

50

一次臨床的変数は、イミグルセラーゼにおいて臨床的に安定したⅠ型ゴーシェ病に罹患する患者に隔週投与されたベラグルセラーゼアルファの安全性を評価することであった。安全性は、各試験の来院時に、バイタルサインを評価し、有害事象（タイプ、頻度、および重症度別に）を文書化することによって、ならびに、必要とされる来院時に、健康診断を行い、臨床検査による評価の変化によって評価することによって、評価された。

【0564】

全ての有害事象は、MedDRA Coding Dictionaryを用いてコードされた。有害事象の要約は、一般に、患者が治験薬を初回注入した（治療中に発生した）後に生じる全ての有害事象に基づいた。

【0565】

二次解析：本試験の第2のエンドポイントは、ベースラインから12ヶ月時点までのヘモグロビン濃度の変化；ベースラインから12ヶ月時点までの血小板数の変化；腹部MRIによるベースラインから12ヶ月時点までの脾臓体積の変化（変化率（％）として評価）（脾臓体積は、体重別に正規化された）；および腹部MRIによるベースラインから12ヶ月時点までの肝体積の変化（変化率（％）として評価）（肝体積は、体重別に正規化された）である。

【0566】

各臨床活性パラメータについては、対立仮説は、ベースライン（すなわち、イミグルセラーゼ治療終了）から12ヶ月時点までの平均変化が、評価されるべきパラメータに対して特定の臨床的に有意なレベル内であった（ここで、ヘモグロビンのベースラインからの集団平均変化は、1 g/dL以内であり、血小板数は、20％以内であり、肝体積および脾臓体積は、15％以内である）。これは、これらの臨床パラメータについて、ベースラインからの真の差異の両側の90％信頼区間を用いて評価した。例えば、ベラグルセラーゼアルファの有効性は、ヘモグロビンのベースラインからの変化の信頼区間が、-1～1 g/dLの区間内である場合に、終了した。

【0567】

治験依頼者の期待は、平均ヘモグロビン濃度が、12ヶ月間にわたって本質的に一定であったことである。例えば、ヘモグロビンについて、二次有効性解析のために、90％信頼区間を用いる代わりに、それぞれ0.05のアルファ水準で、以下の対の統計的仮説検定を使用することができるだろう。

【0568】

$$H_{01} : \mu_d \geq 1 \text{ 対 } H_{11} : \mu_d < 1$$

$$H_{02} : \mu_d \leq -1 \text{ 対 } H_{21} : \mu_d > -1$$

第1の対立仮説（ H_{11} ）を支持して、第1の帰無仮説（ H_{01} ）を棄却することによって、ヘモグロビンについて、ベースラインからの治療平均変化は、ベースライン値よりも高い1 g/dL未満である、0.05の有意水準で終了する。第2の対立仮説（ H_{21} ）を支持して、第2の帰無仮説（ H_{02} ）を棄却することによって、ヘモグロビンについて、ベースラインからの治療平均変化は、ベースライン値よりも低い1 g/dL超である、0.05の有意水準で終了する。 H_{01} および H_{02} は、同時に真であり得ないため、全体のⅠ型の誤差率は、仮定検定の上記の対について、0.05である。したがって、対立仮説を支持して両方の帰無仮説を棄却することによって、治療（ベラグルセラーゼアルファ）のヘモグロビン濃度が、-1～1 g/dLの区間内である0.05の有意水準で終了する。

【0569】

治験依頼者は、信頼区間法が、仮説検定を用いた対応する方法よりも容易に解釈され则认为。したがって、信頼区間法は、二次的推理に使用される。

【0570】

三次解析：本試験の第3のエンドポイントは、ベースラインから12ヶ月時点までの血漿キトトリオンダーゼおよびCCl₁₈値の変化；ベースラインから12ヶ月時点までの2～17歳の患者における骨年齢の変化；ならびに、ベースラインから12ヶ月時点まで

10

20

30

40

50

の発育速度およびタナー分類の変化である。

【0571】

第3のエンドポイントは、各時点での記述的統計学（平均値、中央値、標準偏差、最小値、および最大値）を用いて要約された。データが、ベースライン時、および本試験中の他の時点で収集されたエンドポイントについて、群内の変化を分析した。

【0572】

亜群の分析：さらなる分析は、2～17歳の患者に特定して実行された。また、ヘモグロビンベースライン値に関しては、疾患重症度に対する分析において考慮がなされた。

【0573】

結果

10

40人の患者が、包括解析（ITT）の解析に含まれ（表19）、38人の患者（93%）が、本試験を完了した。1人の患者は、治験薬を受ける前に中断し；15 U/kg 群の2人の患者が中断し、1人は、ベラグルセラゼアルファを伴う初回注入中のアナフィラキシー様反応のため、1人は、ゴーシェ病関連の症状の改善が十分でないという認識のため、31週目で中断した。

【0574】

患者は、先行のイミグルセラゼ計画に対して同じ単位数で、ベラグルセラゼアルファを受けた。先行のイミグルセラゼ使用の中央値は、67ヶ月間（22～192ヶ月間）であった。ベラグルセラゼアルファ用量は、4つの範囲： ≤ 22.5 U/kg（ $n=14$ ）、 $22.5 \sim 37.5$ U/kg（ $n=12$ ）、 $37.5 \sim 52.5$ U/kg（ $n=7$ ）、および > 52.5 U/kg（ $n=7$ ）にグループ分けされた。治験責任医師は、患者が、ヘモグロビンまたは血小板数において臨床的に有意な変化を示す場合、ベラグルセラゼアルファ用量を（隔週で、最大60 U/kgまで）増加させる選択肢があった。本試験中、用量の調節はなされなかった。

20

【表 19】

表 19 ベースライン時のTKT034の患者特性

	ITT集団(n=40)
年齢、平均値(範囲)	36歳(9～71歳);25% 18歳未満
性別、n(%)	18人の男性(45%)/22人の女性(55%)
臨床パラメータ、中央値(範囲)	
ヘモグロビン	13.8 g/dL (10.4～16.5 g/dL)
血小板数	162×10 ⁹ /L(29～399×10 ⁹ /L)
肝体積*	0.8 MN (0.6–1.6 MN)
脾臓体積**	2.5 MN (1.0–16.0 MN)
バイオマーカー、中央値	
キトトリオンダーゼ	3071.3 nmol/mL/時
C-CモチーフリガンD18ケモカイン (CCL18)	325.0ng/mL
先行のイミグルセラゼ使用、中央値(範囲)	67ヶ月間 (22～192ヶ月間)
ベラグルセラゼアルファを受ける前、抗 イミグルセラゼ抗体陽性、n (%)	3 (8%)

*正常な肝体積は、体重の2.5%である。

**無傷の脾臓を有する36人の患者では、4人の患者は、登録前に脾摘を行った。正常な脾臓体積は、体重の0.2%である。MN＝正常の倍率。

【0575】

臨床パラメータは、1年間を通して、治療レベルで持続した（表20）。

【表 20】

表 20

	n	ベース ライン の中央 値	ベースラインから 12 ヶ月時点までの 平均変化または変 化率(%)	90% 信頼区間	臨床的に有意な カットオフ
ヘモグロビン濃度 (g/dL)	40	10.8	-0.1	-0.3, 0.1	-1, 1
血小板数 ($\times 10^9/L$)	40	162	7.0%	0.5%, 13.5%	-20%, 20%
正規化した肝体積 (体重の割合(%))	40	1.9	0.0%	-2.6%, 2.6%	-15%, 15%
正規化した脾臓体積 (体重の割合(%))	36	0.5	-5.6%	-10.8%, -0.4%	-15%, 15%

10

【0576】

20

ベラグルセラーゼアルファは、一般的に、ほとんどの有害事象（AE）が軽度または中度の重症度である、良好な耐容性を示した（表 21）。最も頻繁に報告された有害事象は、鼻咽頭炎（8 人／40 人の患者）、関節痛（9 人／40 人の患者）、および頭痛（12 人／40 人の患者）であった。概して、40 人のうち 11 人の患者（28%）は、治験薬への関連の可能性あり、または多分関連あると見なされる有害事象を経験し、これらの事象の大部分は、注入関連であると思なされた。生命にかかわる有害事象を経験した患者はいなかった。1 つの重度の有害事象は、治療への関連の可能性ありと思なされ、これは、重度の過敏反応を有した 1 人の患者に生じた。この患者は、注入時および 2 週間後の両方で、中和抗体を含む、全ての 4 つのアイソタイプ（IgE、IgM、IgG、IgA）に対して陰性を示した。1 人の患者（15 U/kg 群）は、中断をもたらすアナフィラキシー様反応を経験したが、有害事象により中断した他の患者はいなかった。ベラグルセラーゼアルファに対して IgG 抗体を形成した患者はおらず、これは、スクリーニング時に、抗イミグルセラーゼアルファ抗体に対して陽性を示した 3 人の患者を含んだ。

30

【表 2 1】

表 2 1 T K T 0 3 4 安全性の要約

	患者、n (%)				
	合計 (n=40)	15U/kg (n=15)	30U/kg (n=12)	45U/kg (n=6)	60U/kg (n=7)
1回以上の治療中に発生した有害事象を経験した*	34 (85)	12 (80)	11 (92)	5 (83)	6 (86)
1回以上の薬物関連の有害事象を経験した	11 (28)	6 (40)	3 (25)	1 (17)	1 (14)
1回以上の注入関連の有害事象を経験した†	9 (23)	6 (40)	2 (17)	0	1 (14)
1回以上の重度の有害事象を経験した	5 (13)	0	2 (17)	1 (17)	2 (29)
1回以上の生命にかかわる有害事象を経験した	0	0	0	0	0
1回以上の重篤有害事象を経験した	4 (10)	1 (7)	1 (8)	2 (33)	0
有害事象による中断	1 (3)	1 (7)	0	0	0
死亡	0	0	0	0	0
抗ベラグルセラゼアルファ抗体を形成した	0	0	0	0	0

*治療中に発生した有害事象は、初回注入日もしくは初回注入後から患者が最終注入してから30日間後に生じた有害事象として定義された。

†注入関連の有害事象は、1) 注入中、あるいは注入を開始してから12時間以内に始まる、および2) 治験薬への関連の可能性あり、または多分関連ありと判断される、有害事象として定義された。

【0 5 7 7】

各患者に対して初めの3回の注入は、臨床施設で投与され、この後、薬物関連の重度の有害事象または注入関連の有害事象を経験しなかった患者は、在宅でその後の注入を受けるのに適していた。本試験中、40人のうち25人(63%)の適格な患者は、少なくとも1回の在宅療法を受け、これは、15U/kg群において、10人の患者(67%)、30U/kg群において、6人(50%)、45U/kg群において、5人(83%)、および60U/kg群において、4人(57%)であった。

【0 5 7 8】

ヘモグロビン濃度について、ベースラインの平均変化は、 -0.1 g/dL であり、 $-0.3 \sim 0.1 \text{ g/dL}$ の90%信頼区間があり、 $\pm 1 \text{ g/dL}$ の所定の有効性基準内であった。血小板数について、ベースラインからの変化率(%)は、 $+7.0\%$ であり、 $0.5 \sim 13.5\%$ の90%信頼区間があり、 $\pm 20\%$ の所定の有効性基準内であった。肝体積について、ベースラインからの変化率(%)は、 -0.0% であり、 $-2.6 \sim 2.6\%$ の90%信頼区間があり、 $\pm 15\%$ の所定の有効性基準内であった。脾臓体積について、ベースラインからの変化率(%)は、 -5.6% であり、 $-10.8 \sim -0.4\%$ の90%信頼区間があり、 $\pm 15\%$ の所定の有効性基準内であった。ヘモグロビン濃度、血小板数、肝体積、および脾臓体積は、臨床的に有意な変化に対する事前に指示された有効性基準によって示されるように、1年間のベラグルセラゼアルファ治療を通して治療レベルで持続した。ヘモグロビンの平均変化および血小板数および臓器体積の平均変化率を、図15～18に示す。各パラメータについて、同様の結果が、4つの用量群を通して見られた。

【0579】

血漿キトトリオンシダーゼおよび血漿CC L 18の変化率(%)を、図19および20に示す。両方のバイオマーカーのレベルは、持続し、12ヶ月の治療期間を通して減少する可能性があった。

【0580】

実施例5：HGT-GCB-058試験

要約

HGT-GCB-058は、新たに診断された(治療を受けたことがなかった)、またはイミグルセラーゼからベラグルセラーゼアルファに移行した、1型ゴーシェ病に罹患する患者における、ベラグルセラーゼアルファの安全性を観察するための多施設非盲検治療試験である。本試験設計は、2歳以上の男性または女性の患者のためのものであった。ベラグルセラーゼは、1時間の静脈内(IV)注入によって、15~60U/kgの用量で、隔週投与され、患者は、先行のイミグルセラーゼ用量と同じ単位数のベラグルセラーゼアルファ(15U/kg未満のイミグルセラーゼを隔週で受けている患者は、15U/kgのベラグルセラーゼアルファを受けた)を受けた。注入速度は、最大1U/kg/分であった。

10

【0581】

患者および方法

HGT-GCB-058は、供給上の制約のため、そうでなければ限定された、またはイミグルセラーゼへのアクセスがない患者のための代替の治療選択肢を提供するために開始された。第1のエンドポイントは、ベラグルセラーゼアルファの安全性を観察することであった。

20

【0582】

HGT-GCB-058について、第1の施設で開始されてから3ヶ月以内に、米国の20個の臨床施設は、患者を登録した。2009年9月1日から2010年1月31日の間で、150人超の患者が、HGT-GCB-058に登録し、少なくとも1回のベラグルセラーゼアルファの注入を受けた。わずか3人の患者が治療を受けたことがなく、その他の全ては、イミグルセラーゼにより以前治療していた。

【0583】

予備的安全性の結果

中断：10%未満；コンセントおよびその他の中止(10%未満)；重篤有害事象を含む有害事象の経験(2%未満)。

30

【0584】

治療中に発生した有害事象(TE-AE)：

治療を受けたことがない患者(n=3)：重度の有害事象なし；重篤有害事象なし；2人の患者は、中度の有害事象：頭痛(中度)および背痛(中度)(注入関連~関連の可能性あり)を経験した。

【0585】

イミグルセラーゼにより以前に治療(n>150)：35.8% 少なくとも1つの治療中に発生した有害事象；18.2% 少なくとも1つの関連の可能性あり/多分関連がある治療中に発生した有害事象；13.8% 少なくとも1つの注入関連の応答；1%未満-関連性のない重篤有害事象(69歳の女性は、入院を必要とする重度の脳血管障害を経験)；3.1%-少なくとも1つの重度の有害事象：関節痛(関連性なし)、疲労(多分関連あり)、骨痛(関連性なし)、手足の痛み(関連性なし)、白血球減少症(関連の可能性あり)、脳血管障害(関連性なし)。

40

【0586】

実施例6：比較試験

本実施例の目的は、1型ゴーシェ病を治療する際の、Ceredase(登録商標)、Cerezyme(登録商標)、ベラグルセラーゼアルファ、Genzyme 112638、およびZavesca(登録商標)の有効性を比較することである。ヘモグロビン濃度、

50

血小板数、肝体積、および脾臓体積は、治療から6ヶ月、9ヶ月、または12ヶ月後に測定された。

【0587】

用量：酵素補充療法（ERT）：60U/kgを隔週；Genz112638：50および100mgを1日2回；Zavesca：100mgを1日3回

男性対女性の比率：Cerezyme（8対7）；Ceredase（3対2）；ベラグルセラゼ第I／II相TKT025試験（5対7）；ベラグルセラゼ-TKT032試験-45U/kgの投与（8対5）；ベラグルセラゼ-TKT032試験-60U/kgの投与（7対5）；Zavesca（1対1）；Genz-112638（3対4）

試験対象患者基準：

CerezymeおよびCeredase：貧血および脾腫

ベラグルセラゼTKT025：貧血および血小板減少症

Genz-112638：貧血、血小板減少症、および脾腫

Zavesca投与：臓器肥大症および100/nL未満の血小板または11.5未満のヘモグロビン

ベラグルセラゼHGT-GCB-039およびTKT032：貧血および1つの他のパラメータの兆候

治療を受けたことがない患者におけるベースライン比較を表22に示す。

【表22】

表22

	ヘモグロビン (g/dL)	血小板（細胞 /nL)	肝体積 MN (L)	脾臓体積 MN (L)
Ceredase（登録 商標）	10.8	71	1.83	24
Cerezyme（登 録商標）	10.7	72	1.65	19
ベラグルセラ ーゼ（第I/II相 TKT025）	11.6	57	1.95 (2.4L)	19 (2.1L)
ベラグルセラ ーゼ (TKT032- 45U/kgの投与)	10.9	58	3.50 (体重の割 合(%))	2.90 (体重の割 合(%))
ベラグルセラ ーゼ (TKT032) 60U/kgの投与	10.83	66	3.60 (体重の割 合(%))	2.90 (体重の割 合(%))
Genz-112638	11	70	1.7	19
Zavesca（登録 商標）	11.9	77	(2.4L)	(1.6L)

MN＝正常値の倍数

【0588】

Ceredase（登録商標）、Cerezyme（登録商標）、ベラグルセラーゼアルファ、またはGenz-112638により、6ヶ月間治療した患者からの比較結果を表23に示す。

【表23】

表23

	平均脾臓 体積 の減少の割合 (%)	平均肝臓 体積 の減少の割合 (%)	平均 血小板 の増加の割合 (%) [実際]	平均 ヘモグロビン の増加の割合 (g/dL)
<u>Ceredase</u> （登録商標） ¹ 6ヶ月	32.1 ± 8.8	11.4 ± 9.4	34 [16 /nL]	1.60
<u>Cerezyme</u> （登録商標） ¹ 6ヶ月	37.3 ± 13.6	13.4 ± 13.1	22 [23 /nL]	1.82
<u>ベラグルセラーゼ</u> ² 6ヶ月(n=11)	41.3 ± 9.8	14.7 ± 12.0	38 [23.4 ± 24.6 /nL]	1.92 ± 0.82
<u>Genz-112638</u> ³ 6ヶ月(n=17-21)	27	7	18 [12.5 /nL ⁴]	0.9

1 CerezymeおよびCeredaseデータは、Grabowski *et al.* (1995) *Ann. Intern. Med.* 122, 33-39によって報告された通りである。

CerezymeおよびCeredaseについて、細胞/nL中の血小板数の平均増加は、Cerezyme SBAからのものである。

2 ベラグルセラーゼアルファ第I/I相の結果

3 Oppenheimerの分析専門家の報告：2008年5月8日付けのGenzyme Analyst Day 2008より

4 ベースラインに変化率をかけることによって算出

酵素補充療法は、60 U/kgを隔週投与、Genz 112638は、50および100 mgを1日2回投与

【0589】

Ceredase（登録商標）、Cerezyme（登録商標）、ベラグルセラーゼアルファ、またはGenz-112638により、9ヶ月間および12ヶ月間治療した患者からの比較結果を表24に示す。

【表 2 4】

表 2 4

	平均脾臓体積の減少の割合 (%)	平均肝体積の減少の割合 (%)	平均血小板の増加の割合 (%) [実際]	平均ヘモグロビンの増加の割合 (g/dL)
Ceredase¹ 9 ヶ月間 (n=15)	42.2 ± 6.9	16.4 ± 8.4	53.2 [25.1 /nL]	2.28
Cerezyme¹ 9 ヶ月間 (n=15)	47.1 ± 13.7	21.4 ± 10.8	43.5 [30.9 /nL]	2.54
ベラグルセラゼ² 9 ヶ月間 (n=11)	49.5 ± 12.6	18.2 ± 8.2	67.6 [40.6 ± 30.7 /nL]	2.24 ± 0.89
ベラグルセラゼ³ 1 年間 (n=10)	該当なし	該当なし	95.3 ± 21.2 [54.9 ± 11.1]	2.35 ± 0.3
ベラグルセラゼ⁴ 1 年間 (n=12)	50.4 ± 5.3	17.0 ± 4.5	65.9 ± 16.9 [50.88 ± 12.2]	2.43 ± 0.3
ベラグルセラゼ⁵ 1 年間 (n=10)			40.92	2.44
Genz-112638⁵ 1 年間 (n=11-13)	40	17	40 [26 /nL4]	1.6

1 CerezymeおよびCeredaseの9ヶ月間のデータは、Grabowski *et al.* (1995) *Ann. Intern. Med.* 122, 33-39によって報告された通りであった。用量は、60 U/kgの隔週（EOW）であった。

細胞/nL中の血小板数の平均増加は、生データから算出した。

2 TKT025（第I/II相）（60 U/kgを隔週投与）からのベラグルセラゼアルファの9ヶ月間のデータ

3 TKT025延長（60 U/kgを隔週投与）からのベラグルセラゼアルファの12ヶ月間のデータ

4 TKT032（60 U/kgを隔週投与）からのベラグルセラゼアルファの12ヶ月間のデータ

5 TKT032（45 U/kgを隔週投与）からのベラグルセラゼアルファの12ヶ月間のデータ

3 2009年2月20日の世界会議の発表-50および100 mgを1日2回投与

【0590】

結論：本試験は、ベラグルセラゼアルファが、1型ゴーシェ病を治療する際、治療を開始してから6ヶ月、9ヶ月、または12ヶ月後のヘモグロビン濃度、血小板数、肝体積、および脾臓体積の測定に基づいて、Ceredase（登録商標）、Cerezyme（登録商標）、Genz-112638、およびZavesca（登録商標）と少なくとも同様の有効性があったことを示す。

【0591】

実施例7：抗薬物抗体（ADA）アッセイ

要約

治療用タンパク質に対する抗体の開発は、患者の安全性、有効性、および薬物動態学に影響を及ぼし得る。抗薬物抗体（ADA）および中和抗体（NAb）のパネルアッセイが、3つのベラグルセラゼアルファ第III相試験のうちの1つにおいて、ベラグルセラゼアルファまたはイミグルセラゼを受けている患者の抗体応答を評価および比較する

ために、開発および確認された。

【0592】

酵素補充療法（ERT）等の生物学的療法の潜在的な免疫原性の評価を、以下のステップによって実施した。

【0593】

1. 酵素補充療法に対する抗体についてのスクリーニング
 - i. 偽陽性を考慮する
 - ii. 全てのアイソタイプについての広範囲の特異性
 - iii. 薬物の存在に対する耐性
2. 確認ステップ
 - i. 偽陽性の除外
 - ii. アイソタイプの特異性
3. タイターステップ
 - i. 相対濃度
4. 中和抗体のための試験
 - i. インビトロ活性
 - ii. インビトロ細胞取り込み

10

本評価は、任意の酵素補充療法のために実施され得る。

【0594】

このような評価の例を図21に示す。

20

【0595】

免疫測定法

抗ベラグルセララーゼアルファおよび抗イミグルセララーゼ抗体を、架橋免疫測定法および免疫グロブリン（Ig）のサブクラス特異的直接免疫測定法を同様に用いて評価し、全ては、電気化学発光のプラットフォーム、ならびに、RIPアッセイに基づく。架橋電気化学発光免疫測定法は、全ての免疫グロブリンのサブクラスを検出し、抗体スクリーニングアッセイと見なされた。Igのサブクラス電気化学発光免疫測定法は、IgA、IgM、およびIgE抗体の存在のための確認アッセイであり、一方、RIPアッセイは、IgG抗体の存在のための確認であった。抗体スクリーニングアッセイおよびIgGアッセイは、校正され、定量的であり、ヒト抗体陽性対照を使用した。IgA、IgM、およびIgEアッセイは、半定量であり、ハイブリッド（ヒト-ヒツジ）陽性対照を使用した。

30

【0596】

全ての抗ベラグルセララーゼアルファおよび抗イミグルセララーゼの免疫測定法は、陽性カットオフ基準を含み、ベラグルセララーゼアルファあるいはイミグルセララーゼのいずれかを使用して、試料をインテロゲートする（interrogate）ことを除いては、同一であった。これらのアッセイは、ハイスループットであり、検出のための表面積の増加を提供し、最小非特異的結合を用いて、高濃度の血清試料の使用を可能にし、全ての抗体のサブクラスを検出する。

【0597】

抗体スクリーニングアッセイ

40

図22に示されるように、抗薬物抗体スクリーニングは、電気化学発光（ECL）免疫測定法を用いて実施することができる。

【0598】

抗ベラグルセララーゼアルファ（抗イミグルセララーゼ）抗体は、ストレプトアビジン被覆マイクロウェルプレート上で、固定化したビオチン共役ベラグルセララーゼアルファ（またはイミグルセララーゼ）を用いて検出された。固定化したビオチン化ベラグルセララーゼアルファ（またはイミグルセララーゼ）は、患者の血清中に存在する抗ベラグルセララーゼアルファ（抗イミグルセララーゼ）抗体を捕捉し、非結合タンパク質を洗浄することによって除去した。ルテニウム複合体で標識したベラグルセララーゼアルファ（またはイミグルセララーゼ）を、各マイクロウェルに添加し、結合抗ベラグルセララーゼアルファ（抗イミグルセララー

50

ゼ) 抗体との複合体の形成をもたらす。これに続いて、第2の洗浄ステップを行い、ここで、非結合標識タンパク質を除去した。

【0599】

マイクロウェル表面付近で結合した標識分子は、電気化学発光反応により引き起こされたプロセスにおいて、発光し、これは、MSD SECTOR Imager 2400 機器によって測定された (http://www.mesoscale.com/CatalogSystemWeb/WebRoot/products/imager_2400.aspx)。ベラグルセラールファおよびイミグルセラールゼと交差反応するマウスモノクローナル抗体は、各アッセイプレート内で較正物質として使用され、ベラグルセラールファと交差反応するヒト抗イミグルセラールゼ抗体は、陽性アッセイ対照として使用された。試験試料中の抗ベラグルセラールファ (抗イミグルセラールゼ) 抗体の濃度は、較正曲線における知られていない測定された電気化学発光信号を補間することによって推定された。

10

【0600】

67人のゴーシェ病患者の最低限のベースラインが、これらのアッセイの抗体陽性カットポイントを設定するために試験された。この試験設計には、少なくとも14日間にわたる、異なるプレートロット番号を用いた、少なくとも3人の分析専門家の試験複製試料が含まれた。少なくとも3つの異なるマイクロウェルプレートを使用した。2つの利用可能なMSD装置を、各アッセイの合計1269個の判定のために無作為に使用した。抗ベラグルセラールファ (抗イミグルセラールゼ) 抗体のアッセイカットポイントは、Mir 20 e-Sluis, A R et al. Journal of Immunological Methods 289 (2004), pp1-16に推奨されるように得た電気化学発光値の平均値+1.645の標準偏差として確立した。アッセイの検出感度は、それぞれ、抗ベラグルセラールファおよび抗イミグルセラールゼ抗体に対して、33.4 および65.6 ng/mLであると推定された。

【0601】

本アッセイ (薬物としてベラグルセラールゼを用いる) のスクリーニング特性を表25に示す。

【0602】

各パラメータの仕様は、高感度かつ再生産可能な抗薬物抗体スクリーニングアッセイは、ベラグルセラールファまたはイミグルセラールゼを受けている患者において、抗体応答を評価することが確認されたことを示す。

30

【表 2 5】

表 2 5

パラメータ	仕様
不適合率 (%), RSD アッセイ内 アッセイ間	=6.2 =8.5
精度 (%)	93.5 – 107.7
感度、1ng/mL	100
LOD、2ng/mL	5
LOQ、ng/mL	15
陽性対照	ヒトおよびヒツジ ADA
較正物質	マウスモノクローナル ADA

10

20

ADA＝抗薬物抗体；LOD＝検出の限界；LOQ＝定量の限界；RSD＝相対標準偏差

【0603】

ベラグルセラゼについてのスクリーニングアッセイ用量反応曲線を図 2 3 に示す。

【0604】

B I A C O R E（登録商標）プラットフォーム上のモノクローナル抗薬物抗体の親和性および結合反応速度の例を、表 2 6 に示す。同様のリガンド親和性および結合反応速度を、抗薬物抗体アッセイ較正物質について観察した。

【表 2 6】

表 2 6

リガンド	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
ベラグルセラゼアルファ	9.2E+05	2.7E-04	3.0E-10
イミグルセラゼ	2.8E+06	1.0E-04	3.7E-10
ビオチン化ベラグルセラ ゼアルファ	4.0E+05	2.2E-04	5.4E-10
ビオチン化イミグルセラ ゼ	2.0E+06	9.5E-04	4.8E-10

30

40

【0605】

放射性免疫沈降アッセイ

抗薬物抗体が試料中に検出される場合、抗体の I g アイソタイプを判定するために、確認アッセイを実施することができる。免疫グロブリン G（I g G）抗体は、放射性免疫沈

50

降法を用いて検出された。放射性免疫沈降（R I P）アッセイを図 2 4 に示す。

【0606】

放射性免疫沈降アッセイでは、抗ベラグルセラールゼアルファ（抗イミグルセラールゼ）の I g G 抗体は、溶液相中の ^{125} I-ベラグルセラールゼアルファ（またはイミグルセラールゼ）に結合し、プロテイン G のミニカラムを用いて捕捉した抗原／抗体の複合体を形成した患者血清中に存在する。ミニカラムを洗浄し、遊離標識を除去し、ガンマ計測器において、直接定量化した。ミニカラム中に残留した放射線計数は、試験試料中の抗ベラグルセラールゼアルファ（抗イミグルセラールゼ）の I g G 抗体の濃度に比例した。試験試料中の抗ベラグルセラールゼアルファ（抗イミグルセラールゼ）の I g G 抗体の濃度は、上で論じられた同じモノクローナル抗体校正物質を用いて、校正曲線から推定した。上記の同じヒト抗体陽性対照を、本アッセイに使用した。

10

【0607】

十分に特徴付けられた公知の抗体濃度を用いて、高純度への最小二乗直線適合、モノクローナル抗体ベースの校正曲線は、アッセイの判定における不確定を算出するための信頼性のある、一貫した方法を提供した。このツールは、試薬の放射性標識の崩壊、放射線自己分解（radioautolysis）、および／またはアッセイ操作の変動から生じ得る、計数におけるアッセイ間変化のカットポイントの正規化を可能にし、また非特異的結合の変化および経時的に生じ得るアッセイ読み出しの変化を可能にする。

【0608】

合計 59 人のゴーシェ病患者のベースラインが、本アッセイの抗体陽性カットポイントを設定するために試験された。抗ベラグルセラールゼアルファ（イミグルセラールゼ）の I g G についてのアッセイカットポイントは、上記および M i r e - S l u i s e t a l ² に推奨されるように、確立された。アッセイ感度は、それぞれ、抗ベラグルセラールゼアルファの I g G および抗イミグルセラールゼの I g G アッセイに対して、28.3 および 64.5 ng/mL であると推定された。

20

【0609】

薬物としてベラグルセラールゼを用いて、このようなアッセイで得られた結果の例を表 2 7 に示す。

【0610】

高感度かつ再生産可能な I g G 抗薬物抗体確認アッセイは、ベラグルセラールゼアルファまたはイミグルセラールゼを受けている患者において、抗体応答を評価することが確認された。

30

【表 2 7】

表 2 7

パラメータ	仕様
不適合率 (%), RSD アッセイ内 アッセイ間	 =8.7 =12.0
精度 (%)	90.5 – 132.8
感度、1ng/mL	80
LOD、2ng/mL	4
LOQ、ng/mL	13
陽性対照	ヒトおよびヒツジ ADA
校正物質	マウスモノクローナル ADA

10

20

ADA＝抗薬物抗体；LOD＝検出の限界；LOQ＝定量の限界；RSD＝相対標準偏差

【0 6 1 1】

ベラグルセラゼを用いて、RIPアッセイのために得た用量反応曲線の例を図 2 5 に示す。

【0 6 1 2】

間接電気化学発光免疫測定法

I g G 抗体のスクリーニングに平行して、I g E 抗体の存在についてのスクリーニングするために、アッセイが実施される。また、I g A および I g M 抗体の存在を検出するためにもアッセイを実施することができる。

30

【0 6 1 3】

I g A、I g M、および I g E 抗薬物抗体は、ECLアッセイを用いて検出された。このようなアッセイの例を図 2 6 に示す。

【0 6 1 4】

抗ベラグルセラゼアルファ（イミグルセラゼ）抗体は、間接電気化学発光免疫測定法を用いて、それらの I g のサブクラスについて分析された。抗体は、ストレプトアビジン被覆マイクロウェルプレート上で、ビオチン共役ベラグルセラゼアルファ（イミグルセラゼ）を固定化することによって、血清中に検出された。希釈した血清試料を、固定化したベラグルセラゼアルファ（イミグルセラゼ）に添加し、これは、試料中に存在する任意の抗ベラグルセラゼアルファ（抗イミグルセラゼ）抗体を捕捉した。試料のインキュベーション後、マイクロウェルを洗浄し、非結合タンパク質を除去した。次に、I g A、I g M、または I g E に対するルテニウム複合体で標識した抗ヒト二次抗体を別々に添加し、さらにインキュベートし、任意の結合抗ベラグルセラゼアルファまたはイミグルセラゼ抗体との I g クラス特異的複合体の形成をもたらす。これに続いて、別の洗浄ステップを行い、ここで、非結合標識二次抗体を除去した。次いで、マイクロウェル表面付近で結合した標識分子は、上記のように、発光する。

40

【0 6 1 5】

人工抗体陽性対照は、抗ベラグルセラゼアルファ（抗イミグルセラゼ）I g A、I g M、または I g E 抗体が入手できなかったため、これらのアッセイのために調製された

50

。ヒト Ig A、Ig M、および Ig E 抗体ハイブリッドは、ペラグルセラゼアルファにより過免疫化され (hyperimmunized)、イミグルセラゼと交差反応するヒツジにおいて引き起こされる抗体に対する、化学的に架橋し、精製した、非特異的ヒト Ig A、Ig M、または Ig E フラグメントによって合成された。したがって、Ig A、Ig M、および Ig E 抗体ハイブリッドは、ヒツジ抗体ドメインによってペラグルセラゼアルファ (またはイミグルセラゼ) に結合され、それぞれ、ヒト Ig A、Ig M、または Ig E ドメインに対してルテニウム複合体で標識された抗ヒト二次抗体を用いて検出された。

【0616】

抗ペラグルセラゼアルファ (イミグルセラゼ) の Ig A、Ig M、および Ig E についてのアッセイカットポイントは、上記および Miree-Sluis et al² に推奨されるように、確立された。アッセイ感度は、それぞれ、抗ペラグルセラゼアルファの Ig E および抗イミグルセラゼの Ig E アッセイに対して、10.6 および 11.0 ng/mL であると推定された。抗ペラグルセラゼアルファ (イミグルセラゼ) の Ig A および Ig M 抗体については、時点信号の注入前のベースライン信号に対する 2.0 以上の比率に加えて、アッセイ陽性カットポイントを満たさなければならなかった³。

【0617】

これらのアッセイについては、ハイブリッド陽性対照を使用することができる。例えば、
 - ヒツジ抗薬物抗体 Ig G、およびヒト Ig A、Ig M、および Ig E を処理して、ピリ
 ジルチオール活性化したタンパク質を得る (Gu M. L., Feng S. L.,
 and Glenn J. K. Development of an animal-human antibody complex for use as a control in ELISA. J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 32 (2003), 523-529 を参照のこと)。

【0618】

- 活性化した Ig A、Ig M、および Ig E を還元し、脱塩した。

【0619】

- 活性化した Ig G は、還元した Ig A、Ig M、または Ig E と混合する。

【0620】

- 形成されたハイブリッド抗体は、サイズ排除クロマトグラフィーおよび ECL ELISA によって特徴付けられた。

【0621】

- Ig A および Ig M に対してヒト/ヒツジのモル比の 5、および Ig E に対して 2 を得た。

【0622】

Ig A、Ig M、および Ig E の確認アッセイ特性の例 (ペラグルセラゼが、薬物として使用された場合) を表 28 に示す。

【0623】

高感度かつ再生産可能な Ig A、Ig M、および Ig E 抗薬物抗体のアイソタイプアッセイは、ペラグルセラゼアルファまたはイミグルセラゼを受けている患者において、抗体応答を評価することが確認された。

10

20

30

40

【表 2 8】

表 2 8

パラメータ ⁴	IgA アッセイの仕様	IgM アッセイの仕様	IgE アッセイの仕様
不適合率 (%), RSD アッセイ内 アッセイ間	=3.1 =4.8	=6.2 =3.7	=6.6 =13.3
特異性	α 鎖 Fc	μ 鎖 Fc	ε 鎖 Fc
直線性 ¹ , ng/mL	156 – 2000	156 – 2500	156 – 10000
LOD ² , ECL 計数	260	460	240
陽性対照 ³	ハイブリッド ADA	ハイブリッド ADA	ハイブリッド ADA

¹ハイブリッド対照の応答に基づく；²陽性カットポイント；時点のベースラインに対する比は、2.0 以上でなければならない；³ヒト／ヒツジ抗薬物抗体ハイブリッド対照；⁴高感度かつ再生産可能な IgA、IgM、および IgE 抗薬物抗体アイソタイプアッセイは、ベラグルセラゼアルファまたはイミグルセラゼを受けている患者において、抗体応答を評価することが確認された。

ADA＝抗薬物抗体；LOD＝検出の限界；LOQ＝定量の限界；RSD＝相対標準偏差

【0624】

インビトロ酵素活性の抗体阻害

抗ベラグルセラゼアルファ（イミグルセラゼ）抗体によるインビトロ酵素活性の阻害は、ベラグルセラゼアルファ（イミグルセラゼ）活性を阻害する抗体を検出し、定量化するアッセイを用いて試験された。本方法は、合成基質 4-ニトロフェニル-β-D-グルコピラノシドを加水分解して p-ニトロフェノールおよび D-グルコピラノシドにする、ベラグルセラゼアルファ（イミグルセラゼ）の能力を測定する比色活性アッセイに基づく。

【0625】

抗ベラグルセラゼアルファ（イミグルセラゼ）抗体陽性血清試料は、それぞれ、37℃で、30分間、固定量のベラグルセラゼアルファまたはイミグルセラゼで予めインキュベートした。ベラグルセラゼアルファおよびイミグルセラゼのインビトロ活性を阻害することが知られているヒツジポリクローナル抗体を、陽性対照として使用した。次いで、4-ニトロフェニル-β-D-グルコピラノシド基質溶液を添加し、37℃で、1時間、血清試料／酵素の混合物でインキュベートした。酵素反応は、グリシン／炭酸ナトリウムの緩衝液（pH 10.7）を添加することによって停止させ、生成物（p-ニトロフェノール）を、吸光度の 405 nm の波長で測定した。ベラグルセラゼアルファ（イミグルセラゼ）活性の 1 単位は、37℃で、1分間、1 μモルの基質 4-ニトロフェニル-β-D-グルコピラノシドを加水分解するために必要とされる酵素の量として定義された。酵素活性は、試験試料中の放出された p-ニトロフェノールおよびアッセイ対照を同じアッセイプレート中で測定される p-ニトロフェノール較正曲線と比較することによって定量化された。試験試料の結果は、血清試料がない場合に測定されたベラグルセラゼアルファ（イミグルセラゼ）の活性と比較して表され、阻害率（%）として報告された。

【0626】

アッセイカットポイントは、個人の健常なヒトドナー血清（N＝52）および酵素補充

10

20

30

40

50

療法を受けたことがないゴーシェ病患者（N＝35）から判定された。ベラグルセラゼアルファおよびイミグルセラゼ中和抗体アッセイのカットポイントは、これらの87個の試料に基づいて、20.0%超の阻害として定義された。したがって、患者試料は、観察された阻害のレベルが、20.0%以下である場合、阻害抗体に対して陰性であり、阻害が20.0%を超えた場合、陽性であると見なされた。

【0627】

インビトロ細胞系アッセイ

インビトロ細胞系アッセイを使用して、抗薬物抗体を評価して、抗体が中和しているかどうかを判定した。

【0628】

表29は、抗薬物抗体（ベラグルセラゼを薬物として使用）の中和レベルのアッセイ特性の仕様を示す。

【表29】

表29

パラメータ	仕様
不適合率 (%), RSD アッセイ内 アッセイ間	=12.9 =6.1
精度 (%)	86.7–92.7
直線性, mU/mL	0.3–33.3
陽性カットポイント ¹ , 阻害率 (%)	>20
LOD, mU/mL	0.3
LOQ, mU/mL	1.0
陽性対照	ヒトおよびヒツジ ADA

¹ n＝104 NHSおよび70 酵素補充療法を受けたことがないゴーシェ病血清
LOD＝検出の限界；LOQ＝定量の限界；RSD＝相対標準偏差

【0629】

ゴーシェ病のための酵素補充療法等の酵素補充療法における中和抗体に対して、考慮される点には、

- ・ 受容体媒介の細胞取り込みは、治療剤のインビボ機能にとって重要である。

【0630】

- ・ 抗薬物抗体による受容体結合干渉は、酵素トラフィックを妨害し得る。

【0631】

・ 細胞取り込みの阻害は、以下の理由で成功した酵素補充療法を評価するために重要なツールである。

【0632】

・ それが、機構をそっくり模倣し、これによって、NAbが、インビボでの効果を発揮し得、および

- ・ NAbが、治療剤の生物活性を減少させる、または終了させ得る。

【0633】

・細胞系アッセイは、N A b の評価のための最適な生物学モデルを提供する
 ゴーシェ病のための臨床試験において、酵素補充療法を受けている患者からの試料を、ベラグルセラーゼまたはイミグルセラーゼに対する中和抗体について評価した。結果を表 3 0 に示す。

【表 3 0】

表 3 0

患者 ID 番号	治療	イミグルセラーゼ取り込みの阻害、平均の割合 (%)				ベラグルセラーゼアルファ取り込みの阻害、平均の割合 (%)			
		来院した週数				来院した週数			
		0	13	19	41	0	13	19	41
032-191-0002	ベラグルセラーゼ	NS ²				NS			
039-009-0001	イミグルセラーゼ								
039-194-0001	イミグルセラーゼ								
039-194-0002	イミグルセラーゼ								
039-167-0001	イミグルセラーゼ	NT3	38	38	33	NT	4	5	5
034-027-0002	イミグルセラーゼ ¹	NS	NT ³			NS	NT		
034-154-0001	イミグルセラーゼ ¹	5				10			
034-164-0001	イミグルセラーゼ ¹	38				10			
イミグルセラーゼ取り込みの著しい細胞系阻害は、2 人の抗薬物抗体陽性患者において観察された。									
ベラグルセラーゼアルファ取り込みの細胞系阻害は、試験した任意の抗薬物抗体陽性患者において、ごくわずかであったか、あるいは、観察されなかった。									

¹イミグルセラーゼ治療を以前受けていて、試験開始時に、ベラグルセラーゼアルファに切り替えた；

²有意でない（定量の限界未満）；³今のところ試験されていない；抗ベラグルセラーゼアルファ抗体に対して陰性を示す時点

【0 6 3 4】

インビトロ細胞系アッセイ I

主要目的：実験は、C D 2 0 6 を発現するように改変されたヒト細胞株（H T 1 0 8 0）による C D 2 0 6 により媒介された組み換え酵素の取り込みを阻害する（遮断するまたは中和する）ために、ベラグルセラーゼアルファおよび／またはイミグルセラーゼと反応するヒト抗体反応の能力を判定するため、ならびにこの点において、イミグルセラーゼに反応して産生された抗薬物抗体（A D A）を、ベラグルセラーゼアルファに反応して産生された抗薬物抗体と比較するために、実行された。仮説は、抗原性の差異が、ベラグルセラーゼアルファとイミグルセラーゼの間に存在し、これらのエピトープが、細胞結合、細胞内在化、および／または治療剤の細胞内トラフィックキングにおける抗薬物抗体の機能的

効果に関して、ベラグルセラゼアルファとイミグルセラゼを識別するであろうというものである。

【0635】

材料および装置：

臨界材料

1. 細胞株MRC1-18は、株HT1080に由来し、ヒトCD206（マクロファージマンノース受容体；MMR、MRC1、マンノース受容体C1型とも称される）を安定にトランスフェクトしている。HT1080（saf）細胞は、電気穿孔法によりMMR（ヒト肝臓cDNAライブラリーから単離された）をコードする遺伝子を運ぶ発現ベクターをトランスフェクトされ、96ウェルプレートに直ちに播種した。安定したクローンが、0.4mg/mLのG418を含有する培地を用いて選択された。MRC1発現は、FITC抗-MRC1染色および蛍光シフトによる分析を用いて分析された。MRC1-18におけるMMRの発現は、抗MMR Abを用いて染色する表面によって確認された。さらに、MRC1-18は、Fc（ガンマ）受容体の発現に対して陰性を示すことが免疫染色およびフローサイトメトリーによって確認されている。

10

【0636】

2. Alexa FLUOR（登録商標）488を共役したベラグルセラゼアルファおよびイミグルセラゼ：ベラグルセラゼアルファまたはイミグルセラゼは、製造業者のプロトコル（Molecular Probes、カタログ番号A10235）に従って、Alexa FLUOR（登録商標）488タンパク質標識キットを用いて、Alexa FLUOR（登録商標）488で共役した。

20

【0637】

3. 臨床試験のTKT-032、TKT-034、およびHGT-GCB-039からのイミグルセラゼまたはベラグルセラゼアルファの抗薬物抗体陽性患者の血清（試料IDについては、表31を参照のこと）

4. アッセイ陽性対照（PC）：正常ヒト血清（NHS；BRH127439）における、250μg/mLの精製されたポリクローナルヒツジ抗ベラグルセラゼアルファ抗体（G140）

5. 陰性対照試料：正常な健常ドナーからのヒト血清試料（Bioreclamation、カタログ番号HMSM、BRH127438、BRH127439）、または臨床試験のTKT-032（N=25）に登録した患者からのベースライン血清試料

30

6. マンナン：Sigma カタログ番号M7054

7. D-マンノース-6-リン酸塩：Sigma カタログ番号M3655

8. 成長培地：4mMのL-グルタミン（Invitrogen カタログ番号25230）および0.4mg/mLのジェネティシン（Geneticin）（G418、Invitrogen カタログ番号11811-031）で補充した50% CD-CHO（Invitrogen カタログ番号10743）および50% CD-293（Invitrogen カタログ番号11913）

9. 0.05% トリプシン-EDTA：Invitrogen カタログ番号25300

40

10. 洗浄緩衝液：PBS/0.5% BSA

11. BD血球計算器設定および追跡ビーズ：BD Bioscience カタログ番号641319

装置の部分的な表

1. 5% CO₂を用いた、37℃のインキュベーター：Forma Scientific Model 3033

2. 遠心分離機：Thermo Scientific Model Sorvall Legend T+

3. 細胞計数器：Mexcelom Bioscience LLC、Model Cellometer Auto T4

50

4. フロー血球計算器：BD Bioscience、FACSCanto II

方法：抗体スクリーニングおよび確認アッセイにより抗薬物抗体に対して陽性を示した患者血清は、ヒトマクロファージマンノース受容体（MMR）を発現するように改変されたHT1080細胞株を使用して、インビトロ細胞取り込みアッセイによって、さらに検査を行った。簡潔に言えば、MRC1-18細胞を、0.5 mg/mLのG418で補充したCD培地中で維持した。各アッセイのために、G418が入ったCD培地中の 1.5×10^5 細胞/ウェルを、平底96ウェルプレート中に添加し、1:20で希釈した試験患者血清試料、1:20で希釈した正常ヒト血清（NHS）、または1:20で希釈したNHS中のアッセイ陽性対照（G140抗体、5 mg/mLのマンナン）を用いて、37℃で15分間予めインキュベートした。次いで、5 nMのAlexa FLUOR（登録商標）488で標識したベラグルセラーゼアルファまたはイミグルセラーゼを添加し、37℃で、さらに2時間インキュベートした。Alexa FLUOR（登録商標）488で標識したベラグルセラーゼアルファまたはイミグルセラーゼの校正曲線は、1:20で希釈したNHS中のAlexa FLUOR（登録商標）488で標識したベラグルセラーゼアルファまたはイミグルセラーゼ（0~10 nM）を用いて、37℃で2時間、MRC1-18細胞をインキュベートすることによって、各実験に含まれた。

10

【0638】

2時間インキュベートした後、培地を遠心分離によって除去し、細胞をトリプシン-EDTAで3分間処理して、表面結合のベラグルセラーゼアルファまたはイミグルセラーゼを除去し、次いで、10%のFBSが入った等量の培地を添加することによって中和した。細胞は、PBS/0.5% BSAで1回洗浄し、PBS/0.5% BSA中で再懸濁させ、固定機器を設定したBD FACSCanto IIによって分析した。Canto II機器は、各分析前に、BD血球計算機の設定および追跡ビーズとともに設定された。結果は、FlowJoソフトウェアで分析され、各試料の平均蛍光強度（MFI）を記録した。調整されたMFIは、各試料のMFIからバックグラウンド試料（0 nMの薬物を有する細胞）のMFIを差し引くことによって算出された。患者試料によるベラグルセラーゼアルファおよびイミグルセラーゼ取り込みの障害は、正常ヒト血清試料（NHS）、または入手可能な場合は、患者自身の無処置ベースライン試料と比較して判定された。障害率は、以下の等式を用いて算出することができる。

20

【0639】

障害率（%）= $1 - (\text{試験試料の修正平均蛍光強度} / \text{患者ベースラインまたはNHSの修正平均蛍光強度}) \times 100$

30

結果：

アッセイ開発：

以下の初期結果は、本アッセイの開発時に得られた（データは図示せず）：

・MRC1-18細胞株によるベラグルセラーゼアルファおよびイミグルセラーゼの内在化は、用量依存的である。

【0640】

・MRC1-18細胞株によるベラグルセラーゼアルファおよびイミグルセラーゼの内在化は、内在化が、M6P（5 mM）によってではなくマンナン（5 mg/mL、89%超）によって障害されたため、マンノース受容体によって媒介された。

40

【0641】

・1:20で希釈したNHS（正常ヒト血清）中にスパイクしたG140抗体は、MRC1-18細胞株によって、ベラグルセラーゼアルファおよびイミグルセラーゼ取り込みを障害する。障害は、用量依存的である。

【0642】

・1:20の希釈で試験した12ロットのNHSは、MRC1-18細胞株によって、ベラグルセラーゼアルファおよびイミグルセラーゼ取り込みを障害しなかった。

【0643】

アッセイ変動：

50

臨床検査からの25個の個々の無処置ゴーシェ病血清試料を、3日間（N=75）にわたって試験して、MRC1-18細胞株へのベラグルセラールゼアルファまたはイミグルセラールゼの取り込みにおけるベースライン効果を確立した。

【0644】

ベラグルセラールゼアルファの取り込みにおける平均ベースライン血清効果は、イミグルセラールゼの取り込みにおけるベースライン血清効果と同様であった。しかしながら、CV%として算出された変動は、ベラグルセラールゼアルファに対する変動よりもイミグルセラールゼに対する変動がさらに大きかった（28%対15%）（データは示さず）。

【0645】

本アッセイの抗薬物抗体陽性患者血清試料の結果および再現性：

10

イミグルセラールゼまたはベラグルセラールゼアルファに対して抗体を有することが以前に判定された患者血清試料によるベラグルセラールゼアルファおよびイミグルセラールゼ取り込みの阻害を試験した。各血清試料は、酵素製剤が、初めは、抗体の産生を誘発したにも関わらず、イミグルセラールゼ取り込み、およびベラグルセラールゼアルファ取り込みを遮断する能力について、同時に試験した。表31は、患者血清試料および受けたタンパク質治療を記載する（1人の抗体陽性患者であるENUのみが、ベラグルセラールゼアルファによる治療を受けた）

【表31】

表31：抗薬物抗体陽性患者の血清試料

20

患者	患者の頭文字	受けた治療
032-191-0002	ENU	ベラグルセラールゼアルファ
039-009-0001	RW	イミグルセラールゼ
039-194-0001	GAJ	イミグルセラールゼ
039-194-0002	AVL	イミグルセラールゼ
039-167-0001	KM	イミグルセラールゼ
034-027-0002	SB	イミグルセラールゼ
034-154-0001	JMS	イミグルセラールゼ
034-164-0001	MPQ	イミグルセラールゼ

30

【0646】

患者ENU、RW、GAJ、AVL、およびSBからの試料は、イミグルセラールゼあるいはベラグルセラールゼアルファ取り込みのいずれの阻害も示さなかった（データ示さず）。患者試料のJMS、KM、MPQ、およびSB（陰性対照として）による、ベラグルセラールゼアルファおよびイミグルセラールゼ取り込みの阻害の再現性を、3日間にわたって、正常ヒト血清試料、または入手可能である場合は、患者自身の無処置ベースライン試料と比較して、判定した（表32）。

【0647】

40

患者KM（039-167-0001）は、ベースラインでは無処置であり、その後の試験において、イミグルセラールゼによる治療を受けた。全ての3回の来院からの試料は、ベラグルセラールゼアルファ取り込みの同等の阻害（0～15%、これは、本アッセイの変動範囲内である）と比較して、イミグルセラールゼ取り込みの有意な阻害（そのベースラインと比較して24～52%阻害）を示した。

【0648】

患者SB（034-027-0002）、JMS（034-154-0001）、およびMPQ（034-164-0001）は、イミグルセラールゼにより以前治療したことがあった。患者SBからの血清は、正常ヒト血清試料と比較して、イミグルセラールゼ取り込みの阻害（0%）あるいはベラグルセラールゼアルファ取り込みの阻害（0%）のいずれも

50

示さなかった。患者JMSからの血清によるイミグルセラゼ取り込みの阻害（0～14％）は、ベラグルセラゼアルファ取り込みから観察された阻害（0～20％）と一致した。患者MPQからの血清によるイミグルセラゼ取り込みの阻害（32～45％）は、ベラグルセラゼアルファ取り込みの同等の阻害（0～15％、これは、本アッセイの変動範囲内である）よりも著しく高かった。

【0649】

これらの予備結果は、患者KMおよびMPQからの血清中に存在する中和抗体は、細胞へのイミグルセラゼ取り込みを阻害するが、ベラグルセラゼアルファ取り込みを阻害しないことを示唆する。

【表32】

表32：抗薬物抗体陽性患者試料によるイミグルセラゼまたはベラグルセラゼアルファ取り込みの阻害

患者 番号 #	頭文字	来院	治療	イミグルセラゼ取り込みの 阻害				ベラグル セラゼ アルファ 取り込み の阻害
				1日目	2日目	3日目	平均	
039- 167- 0001	KM	週目 13	ベースラインでは無処置であったが、イミグルセラゼによる治療を受けた	38%	24%	52%	38%	0-8%
		週目 19		29%	45%	40%	38%	
		早期終了		28%	38%	33%	33%	
034- 027- 0002	SB	ベースラインの来院	イミグルセラゼにより以前治療を受けた	0%	0%	0%	0%	0-14%
034- 154- 0001	JMS	ベースラインの来院	イミグルセラゼにより以前治療を受けた	14%	0%	2%	5%	0-20%
034- 164- 0001	MPQ	ベースラインの来院	イミグルセラゼにより以前治療を受けた	45%	32%	40%	38%	0-15%

【0650】

マンノース阻害剤マンナンおよびポリクローナルヒツジ抗ベラグルセラールゼアルファ抗体 G140（陽性対照）によるイミグルセラールゼまたはベラグルセラールゼアルファの取り込みの阻害はまた、3 日間にわたって判定された（表 3 3）。マンナンは、マンノース受容体を通して、MRC 1-18 細胞へのイミグルセラールゼおよびベラグルセラールゼアルファの両方の取り込みを阻害する。G140 抗体は、等量による MRC 1-18 細胞へのイミグルセラールゼおよびベラグルセラールゼアルファの両方の取り込みを阻害する。

【表 3 3】

表 3 3：陽性対照によるイミグルセラールゼまたはベラグルセラールゼアルファ

取り込みの阻害

		イミグルセラールゼ 取り込みの阻害		ベラグルセラール ゼアルファ取り 込みの阻害	
		平均	CV%	平均	CV%
G140	5 µg/mL	52%	37%	42%	14%
G140	10 µg/mL	78%	11%	71%	7%
平均	5 mg/mL	92%	3%	91%	3%

【0 6 5 1】

結論：ベラグルセラールゼアルファおよびイミグルセラールゼは、タンパク質配列（例えば、イミグルセラールゼにおける R 4 9 5 H 変異）および炭水化物構造の両方に関して、構造的に異なる。実験は、抗原性の差異が、ベラグルセラールゼアルファとイミグルセラールゼの間で存在し、これらのエピトープが、各治療法の細胞結合および／または細胞の内在化を遮断する抗薬物抗体（ADA）の能力に関して、ベラグルセラールゼアルファとイミグルセラールゼを識別するという仮説に対処するために実施された。実験は、治療薬の取り込みが、主に、MMR によって促進され、他の公知の取り込み機構による困惑を最小限にしか混乱を来たさない、最近開発された HT 1 0 8 0 細胞株を用いて行われた。患者血清試料によるイミグルセラールゼまたはベラグルセラールゼアルファ取り込みの阻害を測定して、互いに比較された。データは、イミグルセラールゼ治療にตอบสนองして抗薬物抗体を産生した患者から採血した合計 7 つの血清試料のうちから、ベラグルセラールゼアルファ治療にตอบสนองして抗薬物抗体を産生した患者から採血した 1 つの血清試料、およびイミグルセラールゼにตอบสนองして抗薬物抗体を産生した患者からの 2 つの血清（2 / 7 = 2 9 %）が、イミグルセラールゼの細胞取り込みを 2 4 % ~ 5 2 % 阻害が生じたが、アッセイ変動内であるベラグルセラールゼアルファの細胞取り込みのわずか 0 ~ 1 5 % 阻害が生じたことを示す。相対的に、1 人の患者のみが、ベラグルセラールゼアルファ治療にตอบสนองして抗体を産生したことを示すことが特定されたが、この血清は、取り込みを阻害しなかった。

【0 6 5 2】

各血清試料は、酵素製剤が、初めは、抗体の産生を誘発したにも関わらず、イミグルセラールゼ取り込み、および／またはベラグルセラールゼアルファ取り込みを遮断する能力について、同時に試験した。ベラグルセラールゼアルファ取り込みの阻害対イミグルセラールゼ取り込みの阻害のかかる比較は、各治療薬の生物学的に関連のある部分にエピトープのおおまかな「マッピング」を可能にする（但し、本明細書で試験された抗血清が、ポリクローナルであり、ひいては各抗血清が、抗原特異性のある混合物を含有する可能性があり、恐らく、複数のエピトープを認識する）。これらの事前の注意を考慮して、抗イミグルセラールゼ抗血清で観察された取り込みの阻害は、同じ抗血清が、同時に試験されたベラグルセラールゼアルファの内在化を阻害しないため、イミグルセラールゼに限定されていると思われる。これらのデータは、イミグルセラールゼにตอบสนองして産生したいくつかの抗薬物抗体が、

イミグルセララーゼの独特に曝されるエピトープによって細胞内内在化を阻害することを示唆する。さらに、イミグルセララーゼ対ベラグルセララーゼアルファ取り込みにおける血清効果が観察された変動差異は、恐らく、翻訳後の修正に関してイミグルセララーゼ製剤よりもベラグルセララーゼアルファ製剤における均質性が大きいためであり得る。

【0653】

抗ベラグルセララーゼアルファ（イミグルセララーゼ）抗体による酵素取り込みの阻害は、マクロファージマンノース受容体（MMR）により媒介されるベラグルセララーゼアルファ（イミグルセララーゼ）取り込みを妨げる抗体を検出し、定量化する細胞系アッセイを使用して、試験を行った。この方法は、定義された条件下でMRC1-18細胞によって内在化される、蛍光標識したベラグルセララーゼアルファ（イミグルセララーゼ）の定量化に基づく。MRC1-18は、ヒトマクロファージマンノース受容体C、1型を安定にトランスフェクトしたHT1080細胞からの、Shire HGTで改変された細胞株である。

10

【0654】

簡潔に言えば、抗ベラグルセララーゼアルファ（イミグルセララーゼ）抗体陽性血清試料を、平底96ウェルプレート内で培養培地中のMRC1-18細胞とともに37℃で15分間予めインキュベートした。プールされた正常ヒト血清（NHS）を、陰性対照として使用した。ベラグルセララーゼアルファおよびイミグルセララーゼ取り込みを阻害することが知られるヒツジポリクローナル抗体、ならびにMMR特異的リガンドであるマンナン（Sung SJ et al. J. Cell Biol. 1983; 96:160-166）を、酵素取り込みを遮断するために陽性対照として使用した。

20

【0655】

予備インキュベーション後、Alexa Fluor-488で標識したベラグルセララーゼアルファまたはイミグルセララーゼを添加し、37℃でさらに2時間インキュベートした。MRC1-18細胞とのAlexa Fluor-488で標識した酵素のインキュベーションから成る較正曲線を、各実験に含めた。インキュベーション後、培地を遠心分離により除去し、細胞をトリプシン-EDTAで3分間処理し、表面に結合した酵素を除去し、最後に反応pHを等体積の培養培地の添加により中性に戻した。細胞を1回洗浄し、0.5%のBSAを含有するリン酸緩衝生理食塩水を使用して再懸濁させた。細胞は、Becton Dickinson FACS Cantor II機器を使用し、この機器の血球計算器設定および追跡ビーズを使用して各分析前にこの機器を校正して、分析した。

30

【0656】

その結果をこの機器のFlowJoソフトウェアで分析し、各試料の平均蛍光強度（MFI）を記録した。調製されたMFIは、酵素を含有しない試料のウェルからのバックグラウンドMFIを、知られていない試料および対照試料のそれぞれのMFIから差し引くことによって計算された。患者の血清試料による酵素取り込みの阻害を、以下の等式に従って、NHS対照に対して推定した。

【0657】

阻害（%）＝[1－[試験試料の調整されたMFI／NHSの調整されたMFI]]×100

40

アッセイカットポイントは、治療を受けたことがないゴーシェ病患者から収集された25の個々の血清の分析により決定された。各血清を4つの別個の日に合計100の値について試験し、陽性カットポイントを、これらの値の平均に1.645の標準偏差を加えたものよりも大きい阻害として定義した。

【0658】

インビトロ細胞系アッセイII

本アッセイは、ベラグルセララーゼアルファの取り込みをイミグルセララーゼと比較するために開発された。

【0659】

方法：実験設計（DOE）アッセイについて、一般的因子設計は、Stata ease

50

DESIGN EXPERT (商標) ソフトウェアによって補助された。DOEは、ホルボールミリスレートアセテート (PMA) で誘導されたU937細胞に由来するマクロファージを利用し、5 mMのマンノース-6-リン酸塩 (M6P) の存在下で行われた。内在化の比較のために、U937に由来するマクロファージを、10 mMのカルシウムを用いてpH 7.5でGCBとともに3時間インキュベートした内在化した薬物を、切断時に蛍光を発する合成基質 (4-MU-gluc) を用いた活性アッセイによって測定した。

【0660】

結果：ベラグルセラゼアルファおよびイミグルセラゼの内在化率のU937細胞における比較は、ベラグルセラゼアルファがイミグルセラゼより最大2.5倍より効率的に内在化されることを示した。細胞の内在化におけるこの差別化は、MMRを発現するマウス細胞株J774を使用しても観察された。特定のアッセイ条件下では、カルシウムの添加がイミグルセラゼの細胞取り込みを軽度 to 阻害し、一方ベラグルセラゼアルファの取り込みを強化した。両酵素の内在化は、J774細胞によるベラグルセラゼアルファ取り込みの阻害がイミグルセラゼのものよりもより完全ではあったが、培養培地へのマンナンの添加により阻害される可能性がある。DOEアッセイは、i) カルシウムとpHとの相互作用が取り込みに大きく影響を及ぼすこと、ならびにii) バイオアッセイ試料比較には、MMRの知られているカルシウム依存性と一貫したカルシウムの存在が必要であることを明らかにした。DOE実験におけるマンノース-6-リン酸塩 (M6P) の存在は、U937細胞上のM6P受容体が測定される内在化に寄与しないことを保証した。

【0661】

これらのデータは、ベラグルセラゼアルファがイミグルセラゼより効率的に内在化されることを示唆する。双方の酵素がMMRを介して最初に内在化されるが、ベラグルセラゼアルファよりもイミグルセラゼに対してより大きいがわずかな割合が、代替機構によって内在化される。これらのデータは、ベラグルセラゼアルファ、イミグルセラゼ、および他の未来の療法の差別化において貴重なものとなる可能性がある。

【0662】

要約

これらの試験から、抗体検出方法の要約は以下の通りである。

【0663】

・ ICHおよびFDAガイドラインによる、ベラグルセラゼアルファおよびイミグルセラゼADAに対して確認されている同等のアッセイ。例えば、
・ <http://www.fda.gov/downloads/RegulatoryInformation/Guidances/UCM128049.pdf> および
<http://www.ich.org/LOB/media/MEDIA417.pdf>

- ・ スクリーニング
- ・ 確認
- ・ タイター
- ・ アイソタイプ
- ・ 中和、を参照されたい。

【0664】

・ ベラグルセラゼアルファおよびイミグルセラゼADAを並行して評価した、マスキングした患者の検体

- ・ 広範囲の抗体親和性を対象とした対照および校正物質
- ・ ヒト陽性血清が見出されない場合、開発されたアイソタイプ特異的ハイブリッド対照

第III相試験における患者の免疫原性状態：

- ・ TKT032：ベラグルセラゼアルファ60 U/kgまたは45 U/kg隔週に

無作為化された患者

- ・ ベースラインでADA陰性であった1人の患者が、ベラグルセラゼアルファに反応してNabを発達させた。

【0665】

- ・ TKT034：前にイミグルセラゼで安定であり、ベラグルセラゼアルファ15～60U/kgに切り替えた患者
- ・ ベースラインで抗イミグルセラゼ陽性であった3人の患者は、12ヶ月の治療を通じて抗ベラグルセラゼ陰性であった。

【0666】

- ・ HGT-GCB-039：ベラグルセラゼアルファ60U/kgまたはイミグルセラゼ60U/kg隔週に無作為化された患者
- ・ ベースラインでADA陰性だった4人の患者が、イミグルセラゼに反応して血清転換した。

【0667】

- ・ これらのうち、1人がイミグルセラゼおよびベラグルセラゼアルファの双方に対して反応性のNabを発達させ、一方3人がイミグルセラゼのみに対して反応性である非阻害IgG ADAを発達させた。

【0668】

患者の血清変換の要約を表34に示す。治療を受けた99人の患者のうち、82人は、ベラグルセラゼアルファを受け、17人は、イミグルセラゼを受けた。ベラグルセラゼアルファを受けている82人の患者のうちの1人およびイミグルセラゼを受けている17人の患者のうちの4人が、試験中、抗体を形成した。

【表34】

表34

試験	ヶ月間	治療	U/kgで隔週	n	血清変換
TKT032					
12ヶ月間		ベラグルセラゼアルファ	60	12	0/12人の患者
		ベラグルセラゼアルファ	45	13	1/13人の患者
TKT034					
12ヶ月間		ベラグルセラゼアルファ	15-60	40	現在まで: 0人の患者 (3人の患者 イミグルセラゼベースライン時、抗体陽性)
HGT-GCB-039					
9ヶ月間		ベラグルセラゼアルファ	60	17	0/17人の患者
		イミグルセラゼ	60	17	4/17人の患者

【0669】

本実施例において論じられた試験の臨床的意味合いは、以下の通りである。

【0670】

・ベラグルセラゼアルファおよびイミグルセラゼ治療に応答する患者の抗体を直接評価および比較するために、高感度およびかつ同等の方法を開発し、最適化し、確認した。

【0671】

・結果は、ベラグルセラゼアルファで治療された患者の1%、およびイミグルセラゼで治療された患者の23%における血清転換を示し、ベラグルセラゼアルファとイミグルセラゼとの間の著しい抗原性の差異を示唆している。

【0672】

・加えて、イミグルセラゼのADAによる際立った細胞取り込みの阻害があったが、ベラグルセラゼアルファにはなかった。

10

【0673】

実施例8：凍結乾燥されたベラグルセラゼ製品の安定性に対する水分含量の効果

目的：凍結乾燥されたベラグルセラゼ製品に対する水分含量の効果を評価すること。

【0674】

方法：このタンパク質を、スクロースを含有する溶液中に配合し、FTSの実験室規模の凍結乾燥機（Lyostar II）を使用して凍結乾燥した。凍結乾燥バイアルを一次乾燥後に試料採取器を用いていくつかの間隔で除去し、異なる水分含量の試料を得た。凍結乾燥されたタンパク質の二次構造をFT-IRにより検査した。これらの試料の熱安定性を、外観、水分含量サイズ排除および逆送HPLC、ならびにペプチドマッピング方法による酸化により特徴付けた。

20

【0675】

注射用滅菌水での再構成後、ベラグルセラゼ製品は、約2.5 mg/mL（40 U/mL）のベラグルセラゼアルファ、50 mg/mLのスクロース、12.9 mg/mLのクエン酸ナトリウム二水和物、1.3 mg/mLのエン酸一水和物、および0.11 mg/mLのポリソルベート20を含有する。

【0676】

結果：凍結乾燥製品では、1.3%～6.2%の水分含量の範囲が達成された。ケーキの崩壊が、高水分含量（5%以上）を有する薬物製品内で、加速温度（40℃）で観察された。しかしながら、再構成された溶液に対する化学的安定性試験結果は、SE-HPLCおよびRP-HPLCの双方の方法によって、より高い水分含量（3%以上）を有する試料がより乾燥した試料より著しく低い劣化を示し、またより低量の酸化を示すことを示している。この安定性の傾向は、乾燥製品のFT-IRによる二次構造で観察された変化と相関する。

30

【0677】

結論：より高い水分含量が、凍結乾燥されたタンパク質のより良好な化学的安定性をもたらした。この安定性の傾向は、より高い水分含量での固相における二次構造への変化がより少ないことにより説明される。凍結乾燥製品中の適切な水分含量の選択は、ケーキの構造的安定性および本タンパク質の化学的安定性の双方の均衡をとることを必要とする。

【0678】

実施例9：ベラグルセラゼアルファについての治療目標の分析

40

酵素補充療法を受けている1型ゴーシェ病に罹患する患者における、治療応答の達成、維持、および継続をモニタリングするための治療目的が説明されている（Pastores G et al., (2004) Seminars in Hematology, 41 (suppl 5): 4-14）。

【0679】

1型ゴーシェ病の臨床的パラメータ（貧血、血小板減少症、肝腫大、および脾腫）の治療目的に対するベラグルセラゼアルファ治療の影響をベンチマークするために、ベースラインでの貧血、血小板減少症、肝腫大、および脾腫についての目標の患者の割合を、9ヶ月または1年で、これらの目標のそれぞれを達成した割合と比較した。

50

【0680】

データデータ補完は使用しなかった。それぞれの目標について双方の時点でデータを有する患者のみが含まれる。血液学的パラメータについて、ベースラインはスクリーニング値およびベースライン値の平均であり、1年の治療目標値は、TKT032およびTKT034については51週目および53週目の値の平均であり、HGT-GCB-039については39週目および41週目の値の平均であった。臓器体積については、41週目の値をHGT-GCB-039における1年の治療目標基準に適用した。

【0681】

TKT032、HGT-GCB-039、無傷の脾臓を有するHGT-GCB-039患者、HGT-GCB-039脾摘患者、TKT034、およびTKT025の治療目標を、表35～40に記載する。

【表35】

表35

治療目標	ベラグルセラーゼアル ファ 60U/kg N=12		ベラグルセラーゼアル ファ 45U/kg N=13		ベラグルセラーゼアル ファ 全体 N=25	
	ベースラ イン	1年間	ベースラ イン	1年間	ベースライ ン	1年間
ヘモグロビ ン濃度	2/12 (17%)	11/12 (92%)	3/13 (23%)	12/13 (92%)	5/25 (20%)	23/25 (92%)
血小板数	2/11 (18%)	6/11 (55%)	4/13 (31%)	9/13 (69%)	6/24 (25%)	15/24 (63%)
肝臓	5/11 (45%)	11/11 (100%)	7/12 (58%)	8/12 (67%)	12/23 (52%)	19/23 (83%)
脾臓	3/11 (27%)	11/11 (100%)	4/12 (33%)	11/12 (92%)	7/23 (30%)	22/23 (96%)
3つ以上の 目標	1/11 (9%)	10/11 (91%)	5/12 (42%)	9/12 (75%)	6/23 (26%)	19/23 (83%)
全て4つの 目標	1/10 (10%)	6/10 (60%)	0/12 (0%)	7/12 (58%)	1/22 (5%)	13/22 (59%)

10

20

30

【表 3 6】

表 3 6

治療目標	ベラグルセラーゼアルファ 60U/kg N=17		イミグルセラーゼ 60U/kg N=17	
	ベースライ ン	9 ヶ月間	ベースライ ン	9 ヶ月間
ヘモグロビン 濃度	10/16 (63%)	15/16 (94%)	4/15 (27%)	12/15 (80%)
血小板数	8/16 (50%)	16/16 (100%)	9/15 (60%)	15/15 (100%)
肝臓	8/16 (50%)	15/16 (94%)	4/16 (25%)	16/16 (100%)
脾臓	1/6 (17%)	6/6 (100%)	3/6 (50%)	6/6 (100%)
3 つ以上の目標	1/16 (6%)	14/16 (88%)	1/15 (7%)	12/15 (80%)
全て 4 つの目標	0/6 (0%)	6/6 (100%)	0/6 (0%)	6/6 (100%)

10

20

【表 3 7】

表 3 7

治療目標	ベラグルセラーゼアルファ 60U/kg N=7		イミグルセラーゼ 60U/kg N=7	
	ベースライ ン	9 ヶ月間	ベースライ ン	9 ヶ月間
ヘモグロビン 濃度	5/7 (71%)	7/7 (100%)	2/6 (33%)	6/6 (100%)
血小板数	0/7 (0%)	7/7 (100%)	0/6 (0%)	6/6 (100%)
肝臓	6/7 (86%)	7/7 (100%)	1/6 (17%)	6/6 (100%)
脾臓	1/6 (17%)	6/6 (100%)	3/6 (50%)	6/6 (100%)
3 つ以上の目標	1/7 (14%)	7/7 (100%)	1/6 (17%)	6/6 (100%)
全て 4 つの目標	0/6 (0%)	6/6 (100%)	0/6 (0%)	6/6 (100%)

30

40

【表 3 8】

表 3 8

治療目標	ベラグルセラーゼアルファ 60U/kg N=10		イミグルセラーゼ 60U/kg N=10	
	ベースライ ン	9 ヶ月間	ベースライ ン	9 ヶ月間
ヘモグロビン 濃度	5/9 (56%)	8/9 (89%)	2/9 (22%)	6/9 (67%)
血小板数	8/9 (89%)	9/9 (100%)	9/9 (100%)	9/9 (100%)
肝臓	2/9 (22%)	8/9 (89%)	3/10 (30%)	10/10 (100%)
2 つ以上の目標	6/9 (67%)	9/9 (100%)	5/9 (56%)	9/9 (100%)
全て 3 つの目標	0/9 (0%)	7/9 (78%)	0/9 (0%)	6/9 (67%)

10

【表 3 9】

表 3 9

治療目標	ベラグルセラーゼアルファ 全体 N=40	
	ベースライン	1 年目
ヘモグロビン濃 度	37/38 (97%)	37/38 (97%)
血小板数	29/36 (81%)	29/36 (81%)
肝臓	37/37 (100%)	37/37 (100%)
脾臓	30/34 (88%)	31/34 (91%)
3 つ以上の目標	32/37 (86%)	33/37 (89%)
全て 4 つの目標	26/32 (81%)	26/32 (81%)

20

30

【表 4 0】

表 4 0

治療目標	TKT025 ベラグルセラーゼアル ファ 60U/kg N=12		TKT032 ベラグルセラーゼアル ファ 60U/kg N=12	
	ベースラ イン	9 ヶ月目	ベースラ イン	1 年目
ヘモグロビ ン濃度	5/10 (50%)	10/10 (100%)	2/12 (17%)	11/12 (92%)
血小板数	0/10 (0%)	7/10 (70%)	2/11 (18%)	6/11 (55%)
肝臓	5/10 (50%)	7/10 (70%)	5/11 (45%)	11/11 (100%)
脾臓	0/10 (0%)	9/10 (90%)	3/11 (27%)	11/11 (100%)
3 つ以上の 目標	0/10 (10%)	8/10 (80%)	1/11 (9%)	10/11 (91%)
全て 4 つの 目標	0/10 (10%)	5/10 (50%)	1/10 (10%)	6/10 (60%)

【 0 6 8 2 】

実施例 1 0 : 3 型ゴーシェ病の子供と青年期の人におけるベラグルセラーゼアルファの有効性および安全性の研究

ゴーシェ病は、酵素のグルコセレブロシダーゼ（G C B）の欠損により生じるまれなりソソーム貯蔵障害である。ゴーシェ病は、神経症状の存在または不在および神経症状の重症度に基づいて 3 つの臨床亜型に分類されている。2 型ゴーシェ病の患者は、急性の神経機能低下を呈し、3 型ゴーシェ病の患者は、典型的に、より亜急性の神経学的経過を示す；あらゆる場合の 9 0 % 超を占める最も一般的な形態である 1 型ゴーシェ病は中枢神経系に關与しない。

ベラグルセラーゼアルファは、1 型ゴーシェ病の小児患者と成人患者にとって認可された酵素補充療法（E R T）である。E R T は、臓器肥大症を減少させ、血液パラメータを改善し、健康関連 Q O L にプラスに影響することが実証されている。E R T は、血液脳関門を横断することが示されておらず、その結果、ゴーシェ病に關連する神経学的（中枢神経系；C N S）兆候を改善する能力は限られている。

この研究は、3 型ゴーシェ病の患者におけるベラグルセラーゼアルファの有効性および安全性を調査する基礎を提供する。本研究は、3 型ゴーシェ病の子供と青年期の人におけるベラグルセラーゼアルファ酵素補充療法の介入型、多施設、非盲検の有効性および安全性の研究となる。主要転帰測定としては、ヘモグロビン濃度におけるベースラインからの変化；血小板数におけるベースラインからの変化；磁気共鳴映像法（M R I）を使用して測定した正規化肝臓体積におけるベースラインからの変化；磁気共鳴映像法（M R I）を使用して測定した正規化脾臓体積におけるベースラインからの変化；および神経症状におけるベースラインからの変化が挙げられる。安全性の評価としては、有害事象および注関連の有害事象；重篤な有害事象；臨床検査値；尿検査；生命兆候；1 2 誘導心電図（E C G）記録；身体検査；および抗ベラグルセラーゼアルファ抗体形成の評価が挙げられる。この研究で実験に使用される腕には、隔週で、静脈内点滴によりベラグルセラーゼアルフ

ァが投与される。

この研究に含まれるには、各患者は、以下の基準の全てを満たさなければならない：3型ゴーシェ病の確定診断；登録時点で2才以上かつ18才未満；治療を受けたことがないか、または研究登録の以前の12ヶ月以内に治療（治験または承認）を受けていないかのいずれか；患者は、年齢および性別について正常の下限未満のヘモグロビン濃度として定義される、ゴーシェ病関連貧血を患っていないなければならない。患者は、以下の基準の1つ以上も満たさなければならない：触診による少なくとも中程度の脾腫（左肋縁より2から3cm下）； $120 \times 10,000$ 血小板/立方mm未満の血小板数として定義される、ゴーシェ病関連血小板減少症；ゴーシェ病関連の容易に触診される肥大肝。脾臓摘出を経験した患者は、この研究に参加する資格がまだあるであろう。出産能力を有する女性の患者は、この研究中常に医学的に許容された避妊法を使用することに同意しなければならない。妊娠検査は、登録の時点と、研究の参加中ずっと必要に応じて、行われる。男性の患者は、研究中常に医学的に許容された避妊法を使用することに同意し、パートナーの妊娠を調査員に報告することに同意しなければならない。患者の（両）親または患者の法的に承認された代理人は、施設内治験審査委員会／医療機関内倫理委員会（IRB／IEC）により承認された書面による同意書を提出しなければならない。

10

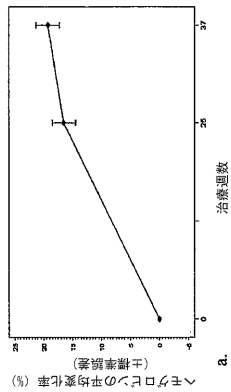
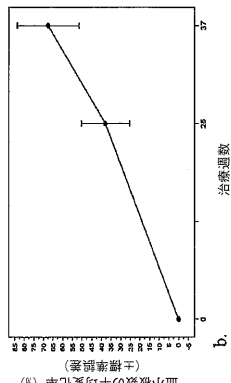
以下の基準のいずれかを満たす患者は、この研究から除外される：患者が、2型またはI型ゴーシェ病に罹患した疑いがある；患者が2才未満である；患者が、ゴーシェ病のためのいずれかの酵素補充療法（承認または治験）に対して重度の（3等級以上）注入関連過敏性反応（アナフィラキシー反応またはアナフィラキシー様反応）を経験したことがある；患者が、研究に登録する以前の30日以内に治験薬によるいずれかの非ゴーシェ病関連の治療を受けたことがある；患者が、妊娠中および／または授乳中の女性である。

20

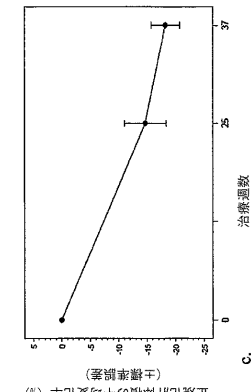
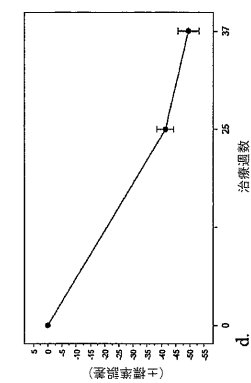
【0683】

本発明のいくつかの実施形態について説明した。それでもなお、本発明の精神および範囲から逸脱することなく、種々の修正を加えることが可能であることが理解されるだろう。したがって、他の実施形態は、以下の特許請求の範囲内である。

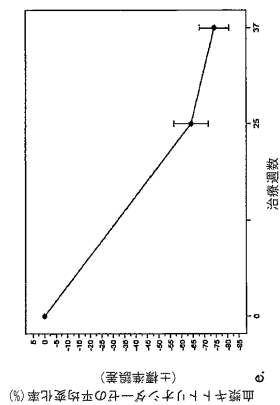
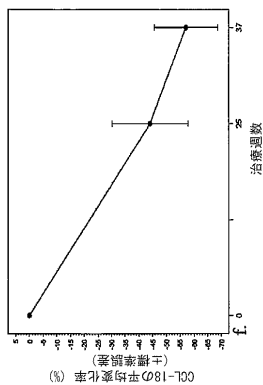
【図 1 - 1】



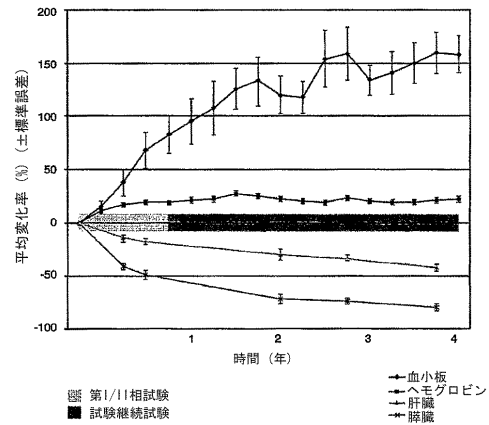
【図 1 - 2】



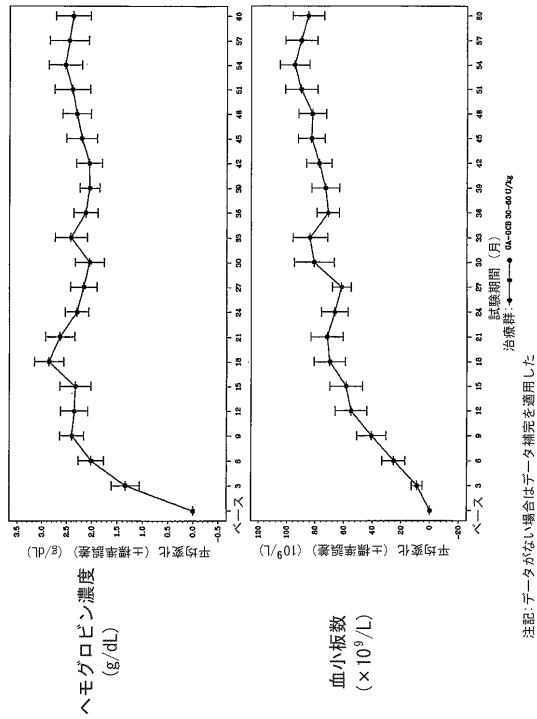
【図 1 - 3】



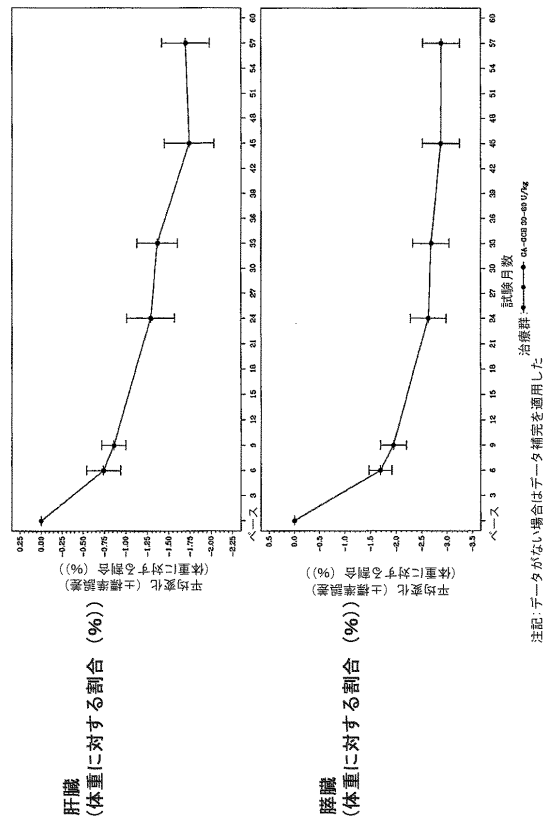
【図 2】



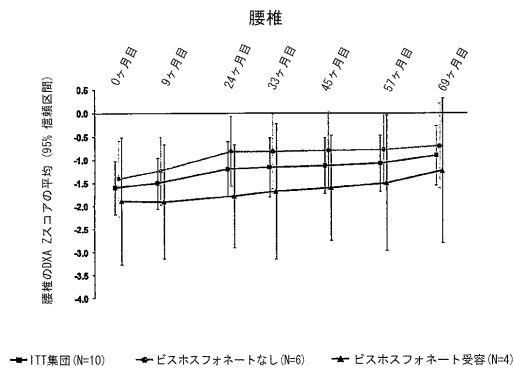
【図 3】



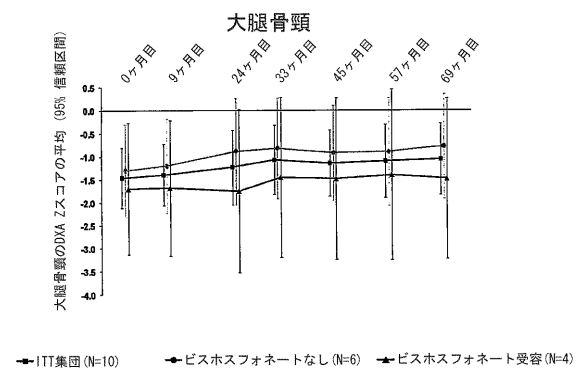
【図 4】



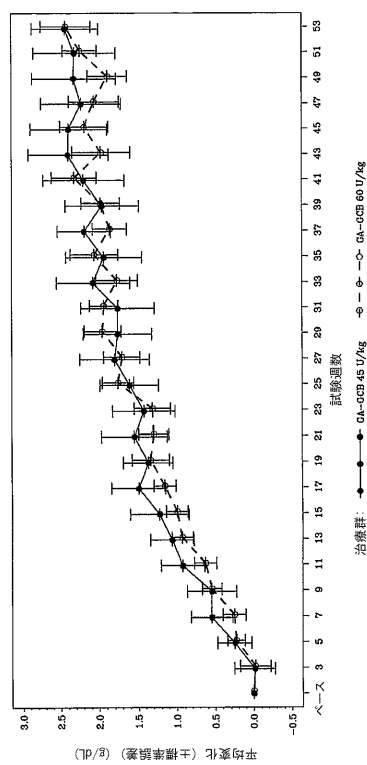
【図 5】



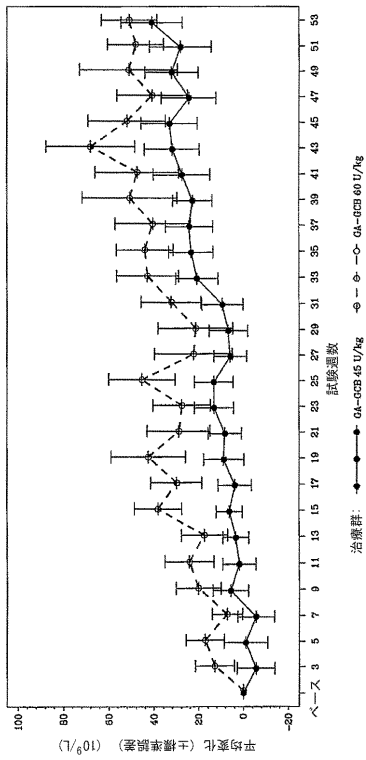
【図 6】



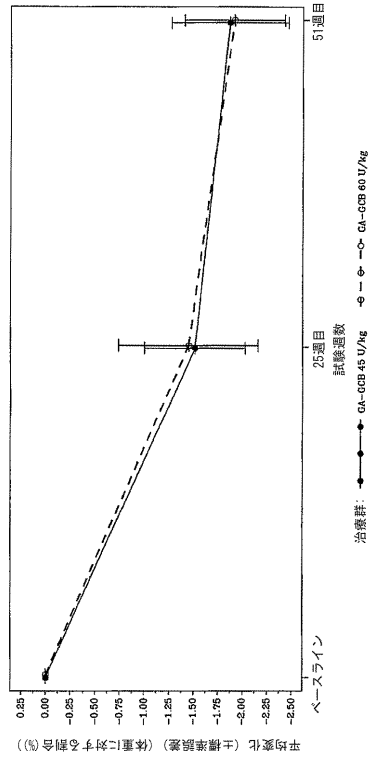
【図 7】



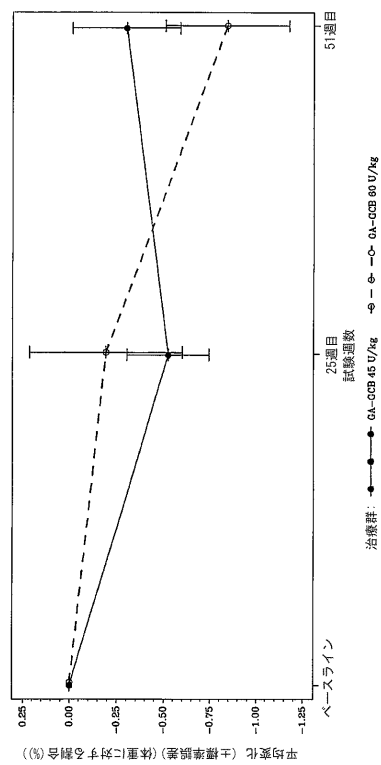
【図 8】



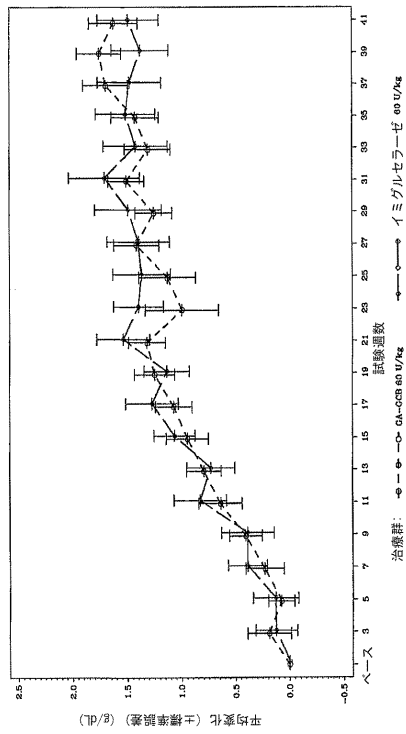
【図 9】



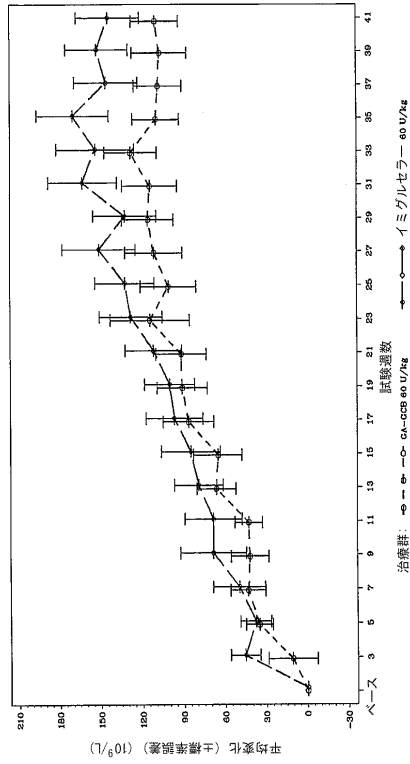
【図 10】



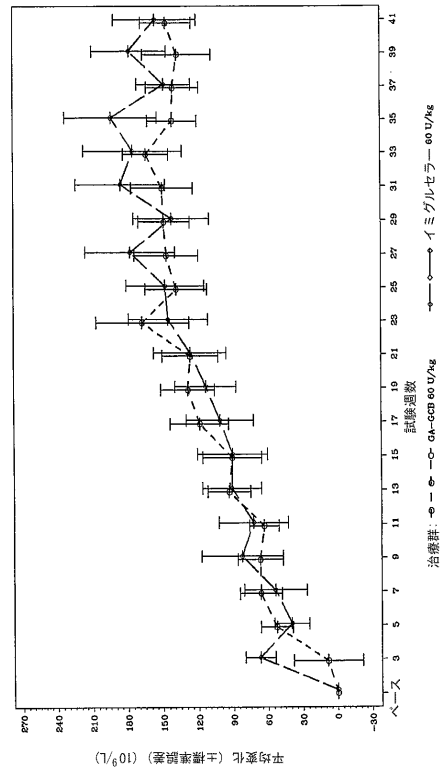
【図 11】



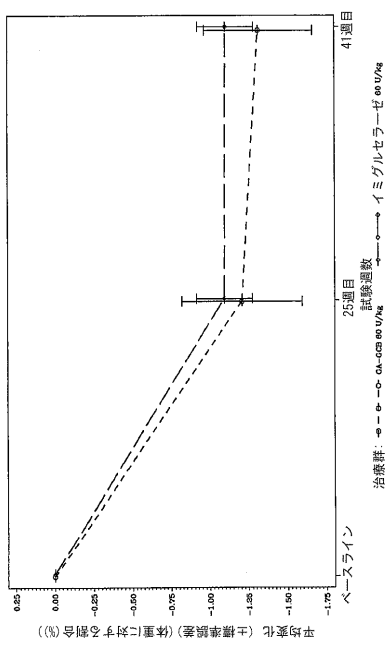
【図 1 2】



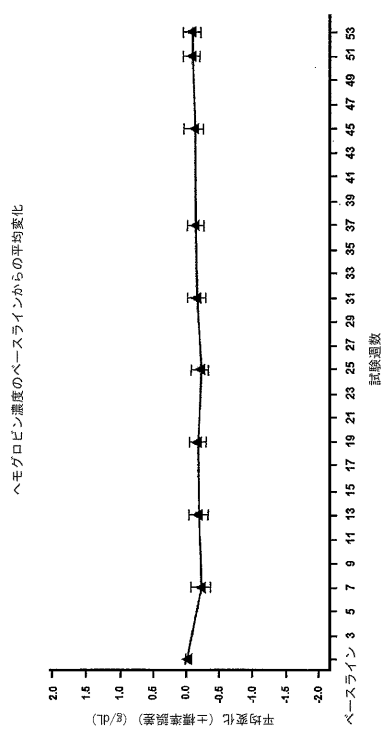
【図 1 3】



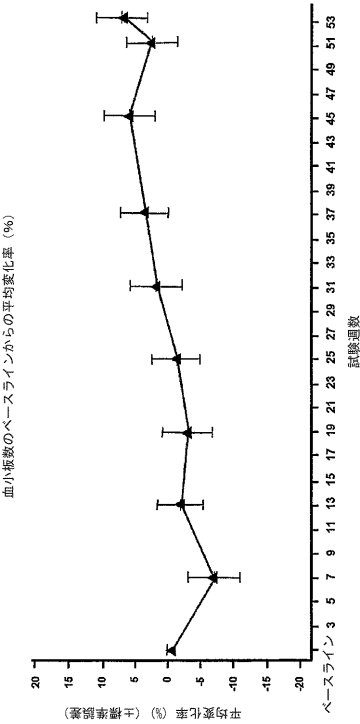
【図 1 4】



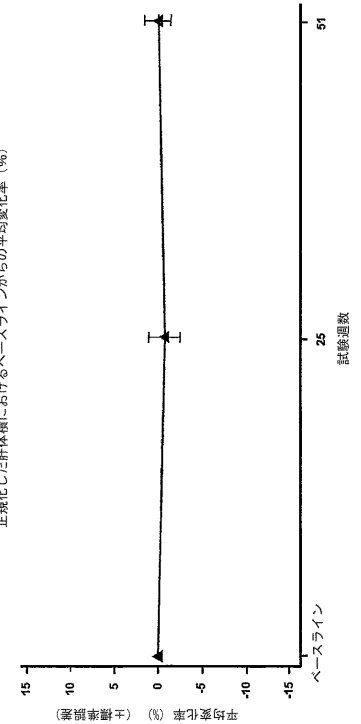
【図 1 5】



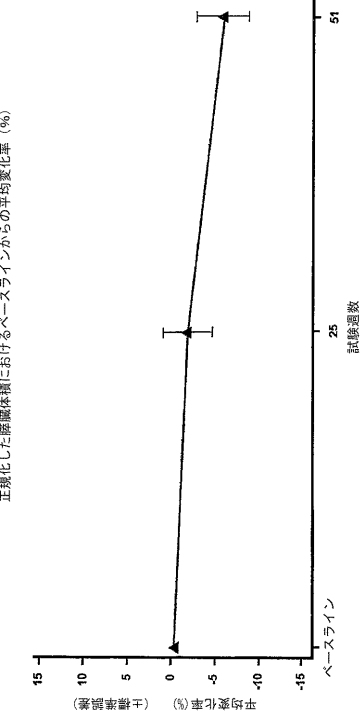
【図 16】



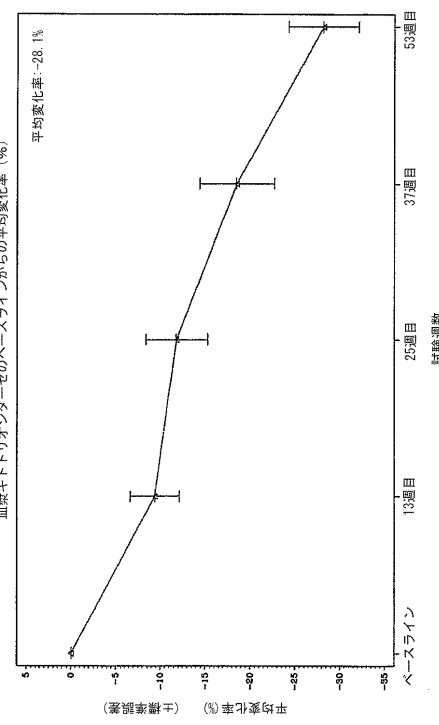
【図 17】



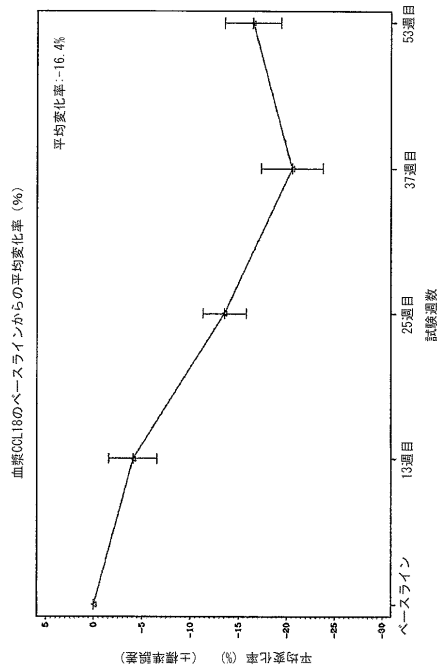
【図 18】



【図 19】

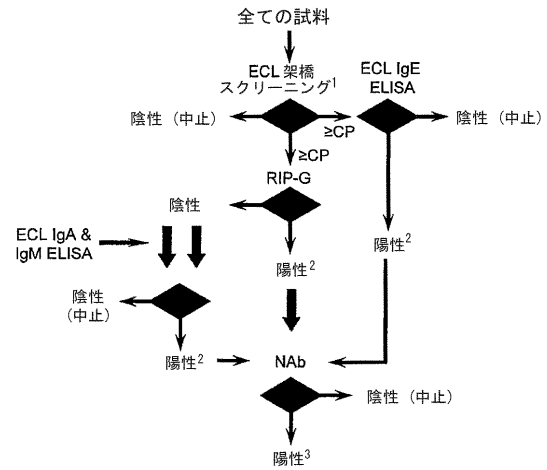


【図 20】



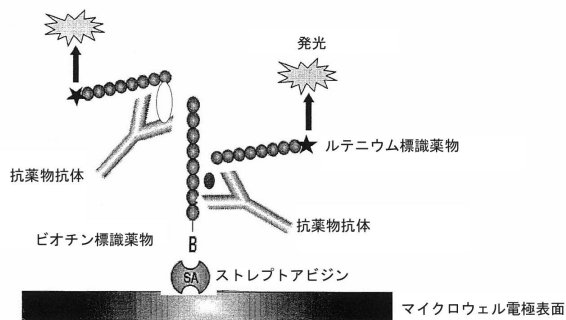
【図 2 1】

ベラグルセラーゼアルファ臨床試験における患者の免疫原性評価

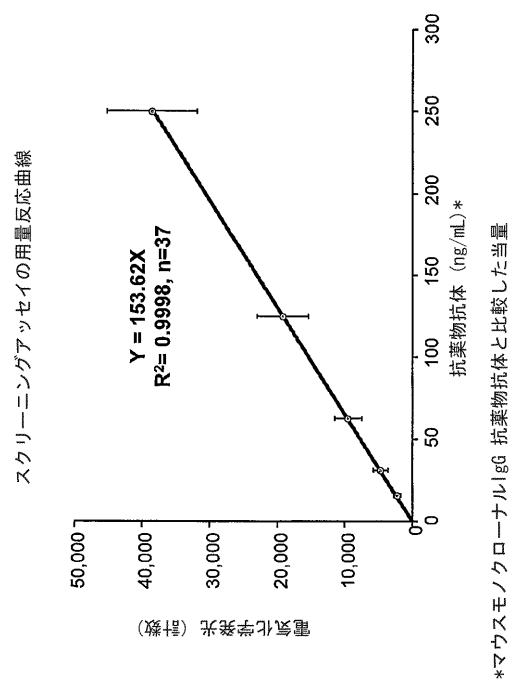
¹陽性 カットポイント (CP) IN ng/mL: ²報告力価: ³報告 % NAb

【図 2 2】

電気化学発光 (ECL) 免疫測定法による抗薬物抗体のスクリーニング



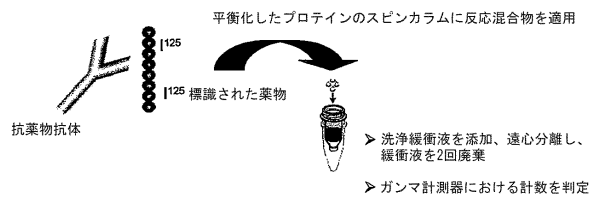
【图 2 3】



【図 2 4】

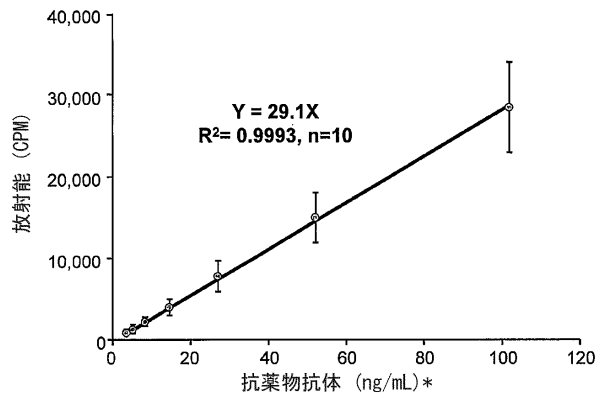
IgG ADA 確認アッセイ

放射性免疫沈降 (RIP) アッセイ



【図 2 5】

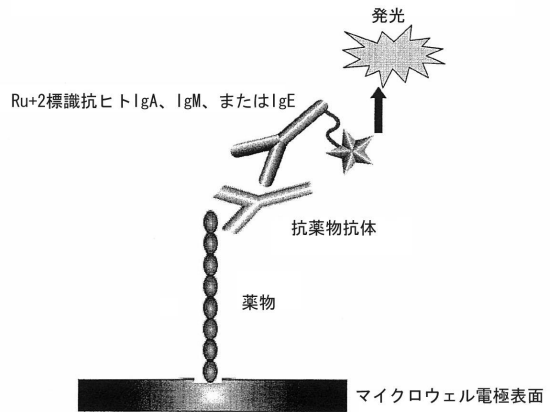
RIPアッセイの用量反応曲線



*マウスモノクローナルIgG 抗薬物抗体と比較した当量

【図 2 6】

IgA、IgM、およびIgE抗薬物抗体の確認アッセイ



フロントページの続き

- (72)発明者 ビランギ, キラン
アメリカ合衆国 ニュージャージー州 デマレスト
- (72)発明者 コーン, ガブリエル マーティン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 イースト ロングメドウ

審査官 砂原 一公

- (56)参考文献 国際公開第2011/017177 (WO, A1)
- BEMBI, B et al, Enzyme replacement treatment in type 1 and type 3 Gaucher's disease, THE LANCET, 1994年, Vol.344, p.1679-1682
- GORNATI, Rosalba et al, Total glycolipid and glucosylceramide content in serum and urine of patients with Gaucher's disease type 3 before and after enzyme replacement therapy, Clinica Chimica Acta, 1998年, Vol.271, No.2, p.151-161
- SELLOS-MOURA Marcia et al, Development of a panel of highly sensitive, equivalent assays for detection of antibody responses to velaglucerase alfa or imiglucerase enzyme replacement therapy in patients with Gaucher disease, Journal of Immunological Methods, 2011年, Vol.373, No.1-2, p.45-53
- COX-BRINKMAN, J. et al., Potential efficacy of enzyme replacement and substrate reduction therapy in three siblings with Gaucher disease type III, Journal of Inherited Metabolic Disease, 2008年, Vol.31, No.6, p.745-752

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
- A61K 38/00-38/58
- CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)
- JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580 (JDreamII)
- 医中誌WEB