



(21) 申請案號：112126724 (22) 申請日：中華民國 112 (2023) 年 07 月 18 日
(51) Int. Cl. : **G01N33/68 (2006.01)** **G01N33/564 (2006.01)**
(30) 優先權：2022/07/19 美國 63/390,377
2022/10/14 歐洲專利局 22201741.0
2023/02/10 美國 63/444,659
(71) 申請人：美商健臻公司 (美國) GENZYME CORPORATION (US)
美國
(72) 發明人：戴維森 馬修 DAVISON, MATTHEW DOUGLAS (US)；王 宏格 WANG,
HONGGE (US)；柯勒 馬修 KOEHLER, MATTHEW CHRISTOPHER (US)；夏
泰和 XIA, TAI-HE (US)；伍德克林格 凱瑟琳 WOOD KLINGER, KATHERINE
(US)；張 百霖 ZHANG, BAILIN (US)
(74) 代理人：陳彥希；何愛文
申請實體審查：無 申請專利範圍項數：97 項 圖式數：11 共 132 頁

(54) 名稱

溶體儲積症的生物標記物

(57) 摘要

提供了用於評估溶體功能障礙以及用於診斷特定溶體儲積症的方法。所述方法採用 CD63 作為生物標記物，並且可以用於診斷和監測病症，以及用於監測和/或調整針對此類病症的治療性干預。還提供了用於在所述方法中使用的測定和套組。

Provided are methods for assessing lysosomal dysfunction, as well as for diagnosing specific lysosomal storage diseases. The methods employ CD63 as a biomarker and can be used for the diagnosis and monitoring of conditions, as well as for the monitoring and/or adjustment of therapeutic interventions for such conditions. Also provided are assays and kits for use in said methods.

【發明摘要】

【中文發明名稱】 溶體儲積症的生物標記物

【英文發明名稱】 BIOMARKERS OF LYSOSOMAL STORAGE DISEASE

【中文】

提供了用於評估溶體功能障礙以及用於診斷特定溶體儲積症的方法。所述方法採用CD63作為生物標記物，並且可以用於診斷和監測病症，以及用於監測和/或調整針對此類病症的治療性干預。還提供了用於在所述方法中使用的測定和套組。

【英文】

Provided are methods for assessing lysosomal dysfunction, as well as for diagnosing specific lysosomal storage diseases. The methods employ CD63 as a biomarker and can be used for the diagnosis and monitoring of conditions, as well as for the monitoring and/or adjustment of therapeutic interventions for such conditions. Also provided are assays and kits for use in said methods.

【指定代表圖】無。

【代表圖之符號簡單說明】無。

【特徵化學式】無。

【發明說明書】

【中文發明名稱】 溶體儲積症的生物標記物

【英文發明名稱】 BIOMARKERS OF LYSOSOMAL STORAGE DISEASE

【技術領域】

【0001】 本公開文本涉及溶體儲積症的生物標記物。本公開文本提供了可用於診斷和監測特定溶體儲積症以及用於監測和/或調整此類病症的治療性干預的方法。

【先前技術】

【0002】 溶體儲積症 (lysosomal storage disorder, LSD) 是一組遺傳疾病，包括法布瑞氏症 (Fabry disease, FD)、高雪氏症 (Gaucher disease, GD) 和粘多糖病 (Mucopolysaccharidosis, MPS)。這些障礙主要涉及溶體水解酶的功能障礙，導致受質降解受損。溶體功能的破壞可能導致內體和溶體中一或多種未降解受質的積累，最終損害細胞功能。儘管每種LSD典型地都是由不同基因中的突變 (因此缺乏酶活性或蛋白質功能) 引起的，但是所有LSD都共用共同的生物化學特徵，因為它們會導致溶體內受質的積累。

【0003】 儘管溶體蛋白是普遍分佈的，但是LSD患者中一或多種未降解受質的積累通常僅限於受質周轉率高的那些細胞、組織和器官。主要儲積物質的積累可能導致一連串對其他生物化學功能和細胞功能的繼發性破壞，從而導致溶體儲積症的嚴重病理。

【0004】 LSD的程度和嚴重性典型地取決於積累的受質的類型和量，但是

幾乎所有的障礙都是進行性的。在各組之間以及每個組內均觀察到許多臨床相似性。許多LSD的常見臨床特徵包括骨骼異常、器官腫大、中樞神經系統功能障礙、以及毛髮和面部特徵粗糙。許多溶體儲積症患者在嬰兒期或兒童期死亡，並且存活至成年期的患者通常壽命縮短並且發病率顯著。

【0005】 單獨的LSD被歸類為罕見疾病，但是以一組障礙為視角時，其盛行率顯著，並且它們代表了重要的健康問題。有限數量的研究調查了LSD的發生率，LSD的發生率被定義為在一定時間段內診斷出的病例總數除以同一時間段內的活產總數。與獲得這些個別罕見障礙的準確流行病學資料相關的主要問題之一是，在大多數國家，存在許多診斷中心，使得收集和關聯診斷的問題變得複雜。全球LSD的綜合估計患病率為7,500名活產中約1名。由於誤診或未確診的病例，真實盛行率可能更高。

【0006】 高雪氏症（GD）是由*GBA*基因中的突變（其導致葡萄糖腦苷脂酶（GC酶）的缺乏）引起的遺傳性代謝障礙。巨噬細胞溶體中主要儲積物質葡萄糖神經醯胺（GL1）的積累會影響網狀內皮系統（包括肝臟、脾臟和骨髓）的細胞。它是最常見的LSD，在一般群體中的患病率為40,000名中約1名。在阿什肯納茲猶太人群體中，盛行率在歷史上高達1,000名中的1名。

【0007】 法布瑞氏症（FD）是僅次於高雪氏症的第二常見LSD。這是一種X連鎖溶體儲積症，其特徵在於由*GLA*基因編碼的酶 α -半乳糖苷酶A（ α -Gal）的活性不足。酶缺乏導致醣神經鞘脂質（最主要是球形三醣神經醯胺（globotriaosylceramide, GL3）在多種細胞類型和組織（包括腎臟、心臟、肝臟、脾臟和皮膚）以及周圍和中樞神經系統中的進行性細胞內積累。

【0008】 粘多糖病（統稱為「MPS」）是遺傳性常染色體隱性障礙（它是

X連鎖的，MPS II型除外），其中粘多糖 - 也稱為糖胺聚糖（GAG） - 在結締組織和全身其他組織（諸如皮膚、軟骨、角膜、肝臟、脾臟和血管組織）中積累。重度表現被認為是發展遲緩、身材矮小、復發性的耳朵和呼吸道感染、肝脾腫大以及面部特徵粗糙的學齡前兒童。隨著時間的推移，兒童會出現聽力損失、心臟瓣膜疾病、呼吸道阻塞、骨骼攣縮和獨特的面部外觀，伴有巨頭畸形、濃眉、牙齦肥厚、巨舌、以及嘴唇和鼻翼增厚。智力受損，並且患者隨著疾病的進展經歷消退。在61%的未經治療的患者中，IQ < 70，並且在2-3年時有25%處於臨界狀態。其他併發症包括角膜渾濁（corneal clouding）、腕隧道症候群、水腦、青光眼、心律不整、頸椎失穩和脊柱壓迫。未經治療的期望壽命是二十年或三十年。

【0009】 目前，尚無針對任何LSD的治療方法，並且針對許多這些病症沒有核准的治療。一個特殊的挑戰在於開發治療LSD中很常見的CNS表現的有效療法。對於可治療的LSD，這些患者（尤其是他們的疾病是在早期被確診和治療的那些患者）的生活品質得到顯著改善。

【0010】 針對LSD的現有治療在它們可用的情況下典型地涉及酶替代療法（enzyme replacement therapy，ERT）（其中向患者投予活性形式的缺失酶以補償患者自身酶的降低或異常的活性）或受質減少療法（substrate reduction therapy，SRT）（其中投予參與缺陷溶體途徑的酶的調節劑以改變通過所述途徑的受質的通量並且降低有問題受質的水準）。在任一種情況下，都需要定期和重複投予所述療法。約70%的核准療法涉及ERT。授權的針對FD的治療基於使用重組 α -Gal（即，阿加糖酶 β （agalsidase beta）（Fabrazyme® - Sanofi，2001年EU核准，2003年US核准）和阿加糖酶 α （Replagal® - Takeda，2001年EU核准））的ERT。如

果FD患者有可符合性GLA突變 (amenable GLA mutation)，他們也可以用小分子伴護蛋白米加司他 (migalastat, Galafold® - Amicus Therapeutics, 2016年EU核准) 治療。針對GD的治療包括ERT例如伊米昔酶 (imiglucerase, Cerezyme® - Sanofi, 1997年EU核准) 和SRT例如依魯司他 (eliglustat, Cerdelga® - Sanofi, 2015年EU核准) 和米格魯他 (miglustat, Zavesca® - Janssen, 2002年EU核准)。針對MPS的治療可以涉及使用 α -L-艾杜糖醛酸酶 (Aldurazyme® - Sanofi, 2003年針對MPS I的EU核准) 的ERT。正在評價治療溶體儲積症的其他活性劑；一種這樣的試劑是文魯司他，即(3S)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基N-{2-[2-(4-氟苯基)-1,3-噻唑-4-基]丙-2-基}胺基甲酸酯，其在2期臨床試驗中作為針對FD的SRT治療。

【0011】 在開始LSD治療之前，有必要診斷病症。鑒於LSD的相對罕見性，診斷的方法應以高水準的靈敏度和特異性為目標。從歷史上看，診斷將基於多種因素（包括家族史、臨床表現和活檢）進行，儘管這可能會錯過早期（症狀前）疾病；這在嚴重的兒童LSD的情況下尤其成問題。最近，已經開發了遺傳篩選以及酶或受質測定來研究一些LSD。然而，此類測試典型地高度特定針對每種LSD或甚至針對每種LSD的亞型，並且對於LSD組通常沒有使用單一生物標記物的廣泛診斷測定。已經提出了多重篩選測定，但是這些尚未被廣泛採用（參見例如，國際專利公開案WO 2004/088322，其測量新生兒血斑中多種溶體蛋白標記物（諸如LAMP-1、皂角素C、 α -葡糖苷酶和 α -艾杜糖醛酸酶）的水準）。

【0012】 直到21世紀00年代初為止一直使用的FD的典型生物標記物是球形三醯神經醯胺 (globotriaosylceramide) (GL3) - 由 α -Gal無活性引起的主要積累受質。關於GL3在疾病病理學中的作用的日益增加的不確定性以及GL3與 α -Gal活性之間或GL3與疾病表現之間缺乏相關性，增加了對更穩健的診斷和預

後生物標記物的需求。 α -Gal活性本身被認為在男性患者中具有診斷潛力，但是在女性患者中的診斷靈敏度差。在21世紀00年代末中，研究了GL3的脫醯化形式球形三脂醯基鞘胺醇（globotriaosylsphingosine）（lyso-GL3）作為FD的生物標記物，並且發現與GL3和 α -Gal活性相比，其具有優異的靈敏度。現在Lyso-GL3是一種重要的診斷性生物標記物，並且通常用於在FD病例的確定中補充完整基因分析。它也可用於監測疾病進展和治療。

【0013】類似的原理可以用於使用GD的生物標記物開發診斷測試。這種疾病的特徵在於由於GC酶的缺乏，葡糖神經醯胺（GL1）及其脫醯化形式葡糖鞘胺醇（lyso-GL1）在體內的積累。Lyso-GL1水準、 β -葡糖苷酶活性和基因*GBA*測序是目前最常見的GD診斷和預後指標。在lyso-GL1的情況下，一些研究表明其病理受累與疾病負擔和臨床嚴重性相關。蛋白質幾丁三糖苷酶（chitotriosidase）和CCL18也已經被鑒定為GD的生物標記物，但是在臨床上並不常用。

【0014】粘多糖病I型（MPS I）（也稱為賀勒氏症（Hurler syndrome））的特徵在於 α -L-艾杜糖醛酸酶（alpha-L-iduronidase，IDUA）酶的缺乏，這導致其分解代謝受質硫酸皮膚素和硫酸乙醯肝素在溶體中的積累。臨床環境中最常見的是，MPS I診斷的第一級是IDUA酶活性。如果酶活性降低，則對血液或血斑進行粘多糖病的第二級測試，以尋找升高的硫酸皮膚素和硫酸乙醯肝素。連同診斷，硫酸皮膚素和硫酸乙醯肝素水準是治療監測的標準。也存在觀察特定GAG的水準的類似測定，所述測定可以用於診斷和/或監測其他粘多糖病。

【0015】然而，對於許多LSD，不存在經臨床驗證的用於診斷或監測治療進展的生物標記物。因此，總體上迫切需要開發用於早期檢測LSD的生物標記物，並且需要開發新且改進的用於表徵和監測特定LSD的方法。

【0016】 本申請證明，細胞表面糖蛋白CD63可以用作診斷和/或監測多種LSD的生物標記物。因此，CD63可以作為LSD發病機制的常見生物標記物。CD63本身不僅可以作為疾病進展的生物標記物起作用，而且CD63水準的測量還可以與其他臨床測量結合使用，以診斷和/或監測特定病症。

【0017】 CD63是一種首先被檢測為血小板活化的標記物的蛋白質，儘管其確切功能未知。它定位於黑色素體和血小板緻密體的膜。一些細胞富含CD63，諸如活化的嗜鹼性粒細胞和增殖的肥大細胞，並且CD63在細胞生物學中常被用作多泡體的標記物。它也被用作從多泡體或質膜釋放的細胞外囊泡的標記物。CD63也可以用作細胞標記物，例如，以定量血小板大小、數量或體積（參見例如，上文的WO 2004/088322）。CD63被高度糖基化，這可能保護其免受溶體酶降解。首次分離並且測序CD63的結構基因和cDNA時，發現它與ME491（與早期黑色素瘤細胞相關的抗原）相同。CD63看起來也與緻密顆粒膜蛋白（granulophysin，與血小板緻密體相關的蛋白質）相同。由於其已知用途，因此存在許多商業套組可用於生物樣品中的檢測和定量。這些典型地基於使用特定抗CD63抗體的ELISA。

【0018】 基於本發明實例中所述的觀察結果，儘管不希望受理論束縛，但是假定CD63可以充當多種溶體儲積症（特別是共用同一醣神經鞘脂質途徑的那些）的循環生物標記物。此外，因為隨著時間的推移患者中CD63的水準可能比LSD（例如，GD）的常規生物標記物的水準更穩定，所以CD63代表特別有利的用於監測特定LSD的生物標記物。

【發明內容】

【0019】 因此，第一態樣提供了一種診斷受試者患有或有風險患上溶體儲積症 (LSD) 的方法，所述方法包括測量來自所述受試者的樣品中的CD63水準，其中CD63是在所述方法中採用的唯一生物標記物。

【0020】 在實施例中，所述受試者被診斷為患有或有風險患上溶體儲積症，所述溶體儲積症包括法布瑞氏症、高雪氏症、MPS I型、MPS II型和MPS III型。

【0021】 另一態樣提供了一種檢測或診斷受試者的溶體功能障礙的方法，所述方法包括測量來自所述受試者的樣品中的CD63水準，其中CD63是所述方法中採用的唯一生物標記物。

【0022】 另一態樣提供了一種檢測或診斷受試者的異常醣神經鞘脂質 (glycosphingolipid) 加工的方法，所述方法包括測量來自所述受試者的樣品中的CD63水準，其中CD63是在所述方法中採用的唯一生物標記物。

【0023】 另一態樣提供了一種用於生成受試者的定量資料的方法，所述方法包括確定來自所述受試者的樣品中的單一生物標記物的水準，其中所述生物標記物是CD63。

【0024】 在實施例中，所述受試者先前未被診斷為患有LSD和/或未被評估與溶體功能障礙或異常醣神經鞘脂質加工相關的風險因素。在實施例中，所述樣品包括（例如，由以下組成）選自血漿和血清的血液級分。

【0025】 在實施例中，如果CD63的水準大於對照值，則所述受試者被診斷為患有或有風險患上溶體儲積症或被診斷為患有溶體功能障礙或異常醣神經鞘脂質加工，其中所述對照值被測量為在較早時間點從同一受試者或從一或多個健康受試者取得的樣品中的CD63水準。

【0026】 另一態樣提供了CD63作為生物標記物在診斷受試者的溶體儲積

症、檢測或診斷受試者的溶體功能障礙、或者檢測或診斷受試者的異常醣神經鞘脂質加工中的用途，其中CD63用作所述檢測或診斷中的唯一生物標記物。

【0027】 另一態樣提供了一種診斷疑似有風險患上法布瑞氏症的受試者的法布瑞氏症的方法，所述方法包括測量來自所述受試者的樣品中的CD63水準。

【0028】 在實施例中，由於出現以下情況中的一或多種，所述受試者疑似有風險患上法布瑞氏症：法布瑞氏症家族史、疲勞、疼痛、晶狀體或角膜混濁（corneal opacity）、渦狀角膜病變、血管角化瘤、呼吸短促、心悸、水腫、腎臟疾病、心肌功能障礙、傳導異常伴PR間期縮短、心律不整、眩暈、頭痛、複視、構音障礙、單側共濟不能、暫時性腦缺血、早發性中風和癡呆。在實施例中，如果在來自所述受試者的樣品中測量的CD63水準大於對照值，則所述受試者被診斷為患有法布瑞氏症，其中所述對照值被測量為從一或多個健康受試者取得的樣品中的CD63水準。在實施例中，如果在來自所述受試者的樣品中測量的CD63水準比所述對照值高至少約100%，則所述受試者被診斷為患有法布瑞氏症。

【0029】 另一態樣提供了一種用於生成受試者的定量資料的方法，其中所述方法包括（例如，由以下組成）確定來自所述受試者的樣品中的CD63水準，其中所述受試者患有法布瑞氏症或疑似患有法布瑞氏症。

【0030】 另一態樣提供了CD63作為生物標記物在診斷疑似有風險患上法布瑞氏症的受試者的法布瑞氏症中的用途。

【0031】 另一態樣提供了CD63作為生物標記物以改善診斷受試者的法布瑞氏症的方法的用途，視情況地其中CD63與GL3、lyso-GL3和/或 α -Gal活性一起

用作生物標記物。

【0032】 另一態樣提供了一種治療通過如上文所定義的方法已經被診斷為患有法布瑞氏症的受試者的方法，所述治療包括向所述受試者投予針對法布瑞氏症的一或多種治療性治療。

【0033】 另一態樣提供了一種治療有需要的患者的法布瑞氏症的方法，其中所述患者具有高於正常的血漿CD63水準，所述方法包括向所述受試者投予有效量的針對法布瑞氏症的治療性治療。

【0034】 另一態樣提供了一種用於生成受試者的定量資料的方法，其中所述方法包括：(a) 確定來自所述受試者的樣品中的CD63水準；(b) 確定CD63的水準是否大於對照值，其中所述對照值被測量為從一或多個健康受試者取得的樣品中的CD63水準；以及(c) 如果所述樣品中的CD63水準大於對照值，則對所述受試者施用針對法布瑞氏症的一或多種治療性治療。

【0035】 在實施例中，所述一或多種治療性治療包括(例如，由以下組成)受質減少療法、伴護蛋白療法、酶替代療法和/或基因療法。在實施例中，所述治療包括向所述受試者投予文魯司他或米加司他，例如文魯司他。在其他實施例中，所述治療包括向所述受試者投予重組 α -半乳糖苷酶，例如阿加糖酶 β 。

【0036】 另一態樣提供了一種用於治療受試者的法布瑞氏症的治療劑，其中所述受試者已經通過如上文所定義的方法被診斷為患有法布瑞氏症。

【0037】 在實施例中，所述一或多種治療性治療包括(例如，由以下組成)受質減少療法、伴護蛋白療法、酶替代療法和/或基因療法。在實施例中，所述治療包括向所述受試者投予文魯司他或米加司他，例如文魯司他。在其他實施例中，所述治療包括向所述受試者投予重組 α -半乳糖苷酶，例如阿加糖酶 β 。

【0038】 另一態樣提供了一種用於監測被診斷為患有法布瑞氏症的受試者的法布瑞氏症的進展的方法，所述方法包括：**(a)** 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；**(b)** 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中所述第二樣品是在從所述受試者取得所述第一樣品之後從所述受試者取得的；**(c)** 比較所述第一樣品中的CD63水準與所述第二樣品中的CD63水準；以及**(d)** 如果所述第二樣品中的CD63水準大於所述第一樣品中的CD63水準，則確定所述受試者的法布瑞氏症變得更加嚴重，如果所述第二樣品中的CD63水準與所述第一樣品中的CD63水準基本上相同，則確定所述受試者的法布瑞氏症沒有進展，並且如果所述第二樣品中的CD63水準低於所述第一樣品中的CD63水準，則確定所述受試者的法布瑞氏症變得不那麼嚴重。

【0039】 另一態樣提供了一種用於生成被診斷為患有法布瑞氏症的受試者的定量資料的方法，所述方法包括以下步驟：**(a)** 確定來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；**(b)** 確定來自所述受試者的後續樣品中的CD63水準；以及**(c)** 將步驟**(a)**中確定的CD63水準與步驟**(b)**中確定的水準進行比較。

【0040】 在實施例中，所述樣品是血液樣品，例如血漿樣品。

【0041】 另一態樣提供了一種用於監測被診斷為患有法布瑞氏症的受試者的針對法布瑞氏症的治療進展的方法，所述方法包括：**(a)** 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；**(b)** 向所述受試者投予針對法布瑞氏症的治療性治療；**(c)** 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中所述第二樣品是在投予所述治療性治療之後從所述受試者取得的；以及**(d)** 如果所述第二樣品中的CD63水準低於所述第一樣品中的CD63水準，則確定所述治療成功。

【0042】 另一態樣提供了一種治療或預防被評估為有風險患上法布瑞氏

症的受試者的法布瑞氏症的發展或進展的方法，所述方法包括以下步驟：(a) 從所述受試者中取得第一生物樣品，並且分析所述樣品的CD63濃度；(b) 如果所述CD63濃度高於對照值，則開始對所述受試者進行針對法布瑞氏症的治療性治療過程，並且視情況地；(c) 在治療所述受試者之後，從所述受試者取得第二生物樣品，並且分析所述樣品的CD63濃度以確定CD63水準的變化；以及(d) 基於觀察到的CD63水準的變化調整所述治療性治療。

【0043】 另一態樣提供了一種用於調整接受針對法布瑞氏症的治療性治療的受試者的所述治療性治療的劑量的方法，所述方法包括：(a) 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；(b) 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中所述第二樣品是在投予一或多個劑量的所述治療性治療之後從所述受試者取得的；以及(c) 基於所述第一樣品中的CD63水準與所述第二樣品中的CD63水準之間的差異來調整所述治療性治療的劑量。

【0044】 另一態樣提供了一種用於生成患有法布瑞氏症的受試者的定量資料的方法，所述方法包括以下步驟：(a) 確定來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；(b) 在向所述受試者投予針對法布瑞氏症的治療性治療後，確定來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準。

【0045】 在實施例中，如果步驟 (b) 中確定的CD63水準與步驟 (a) 中確定的CD63水準基本上相同或大於步驟 (a) 中確定的CD63水準，則將增加所述治療性治療的劑量。

【0046】 在實施例中，所述治療性治療包括（例如，由以下組成）受質減少療法、伴護蛋白療法、酶替代療法或基因療法。在實施例中，所述治療包括向所述受試者投予文魯司他或米加司他，例如文魯司他。在其他實施例中，所

述治療包括向所述受試者投予重組 α -半乳糖苷酶，例如阿加糖酶 β 。

【0047】 在實施例中，在開始所述治療性治療後至少8週，從所述受試者取得所述第二或後續樣品。

【0048】 另一態樣提供了CD63作為生物標記物用於監測被診斷為患有法布瑞氏症的受試者的法布瑞氏症的進展、或者用於監測針對法布瑞氏症的治療進展、或者用於調整被診斷為患有法布瑞氏症的受試者的針對法布瑞氏症的治療性治療的劑量的用途。

【0049】 另一態樣提供了一種診斷疑似有風險患上高雪氏症的受試者的高雪氏症的方法，所述方法包括測量來自所述受試者的樣品中的CD63水準。

【0050】 在實施例中，由於出現以下情況中的一或多種，所述受試者疑似有風險患上高雪氏症：高雪氏症家族史、肝腫大和脾腫大、疼痛、骨質疏鬆症、皮膚色素沉著、全部血球減少症、神經系統症狀和帕金森氏症。在實施例中，如果在來自所述受試者的樣品中測量的CD63水準大於對照值，則所述受試者被診斷為患有高雪氏症，其中所述對照值被測量為從一或多個健康受試者取得的樣品中的CD63水準。在實施例中，如果在來自所述受試者的樣品中測量的CD63水準比所述對照值高至少約100%，則所述受試者被診斷為患有高雪氏症。

【0051】 另一態樣提供了一種用於生成受試者的定量資料的方法，其中所述方法包括確定（例如，由以下組成）來自所述受試者的樣品中的CD63水準，其中所述受試者患有高雪氏症或疑似患有高雪氏症。

【0052】 另一態樣提供了CD63作為生物標記物在診斷疑似有風險患上高雪氏症的受試者的高雪氏症中的用途。

【0053】 另一態樣提供了CD63作為生物標記物以改善診斷受試者的高雪

氏症的方法的用途，視情況地其中CD63與GL1、lyso-GL1和/或 β -葡糖苷酶（GC酶）活性一起用作生物標記物。

【0054】 另一態樣提供了一種治療通過如上文所定義的方法已經被診斷為患有高雪氏症的受試者的方法，所述治療包括向所述受試者投予針對高雪氏症的一或多種治療性治療。

【0055】 另一態樣提供了一種治療有需要的患者的高雪氏症的方法，其中所述患者具有高於正常的血漿CD63水準，所述方法包括向所述受試者投予有效量的針對高雪氏症的治療性治療。

【0056】 另一態樣提供了一種用於生成受試者的定量資料的方法，其中所述方法包括：(a) 確定來自所述受試者的樣品中的CD63水準；(b) 確定CD63的水準是否大於對照值，其中所述對照值被測量為從一或多個健康受試者取得的樣品中的CD63水準；以及(c) 如果所述樣品中的CD63水準大於對照值，則對所述受試者施用針對高雪氏症的一或多種治療性治療。

【0057】 在實施例中，所述一或多種治療性治療包括（例如，由以下組成）受質減少療法、伴護蛋白療法、酶替代療法和/或基因療法。在實施例中，所述治療包括向所述受試者投予文魯司他、依魯司他或米格魯他。在實施例中，所述治療包括向所述受試者投予重組葡萄糖腦苷脂酶，例如伊米昔酶。

【0058】 另一態樣提供了一種用於治療受試者的高雪氏症的治療劑，其中所述受試者已經通過如上文所定義的方法被診斷為患有高雪氏症。

【0059】 在實施例中，所述治療劑是如上文所定義的治療性治療。

【0060】 另一態樣提供了一種用於監測被診斷為患有高雪氏症的受試者的高雪氏症的進展的方法，所述方法包括：(a) 測量來自所述受試者的第一樣品

中的CD63水準；(b) 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中所述第二樣品是在從所述受試者取得所述第一樣品之後從所述受試者取得的；(c) 比較所述第一樣品中的CD63水準與所述第二樣品中的CD63水準；以及(d) 如果所述第二樣品中的CD63水準大於所述第一樣品中的CD63水準，則確定所述受試者的高雪氏症變得更加嚴重，如果所述第二樣品中的CD63水準與所述第一樣品中的CD63水準基本上相同，則確定所述受試者的高雪氏症沒有進展，並且如果所述第二樣品中的CD63水準低於所述第一樣品中的CD63水準，則確定所述受試者的高雪氏症變得不那麼嚴重。

【0061】 另一態樣提供了一種用於生成被診斷為患有高雪氏症的受試者的定量資料的方法，所述方法包括以下步驟：(a) 確定來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；(b) 確定來自所述受試者的後續樣品中的CD63水準；以及(c) 將步驟 (a) 中確定的CD63水準與步驟 (b) 中確定的水準進行比較。

【0062】 在實施例中，所述樣品是血液樣品，例如血漿樣品。

【0063】 另一態樣提供了一種用於監測被診斷為患有高雪氏症的受試者的針對高雪氏症的治療進展的方法，所述方法包括：(a) 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；(b) 向所述受試者投予針對高雪氏症的治療性治療；(c) 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中所述第二樣品是在投予所述治療性治療之後從所述受試者取得的；以及(d) 如果所述第二樣品中的CD63水準低於所述第一樣品中的CD63水準，則確定所述治療成功。

【0064】 另一態樣提供了一種治療或預防被評估為有風險患上高雪氏症的受試者的高雪氏症的發展或進展的方法，所述方法包括以下步驟：(a) 從所述受試者中取得第一生物樣品，並且分析所述樣品的CD63濃度；(b) 如果所述CD63

濃度高於對照值，則開始對所述受試者進行針對高雪氏症的治療性治療過程，並且視情況地：(c) 在治療所述受試者之後，從所述受試者取得第二生物樣品，並且分析所述樣品的CD63濃度以確定CD63水準的變化；以及(d) 基於觀察到的CD63水準的變化調整所述治療性治療。

【0065】 另一態樣提供了一種用於調整接受針對高雪氏症的治療性治療的受試者的所述治療性治療的劑量的方法，所述方法包括：(a) 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；(b) 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中所述第二樣品是在投予一或多個劑量的所述治療性治療之後從所述受試者取得的；以及(c) 基於所述第一樣品中的CD63水準與所述第二樣品中的CD63水準之間的差異來調整所述治療性治療的劑量。

【0066】 另一態樣提供了一種用於生成患有高雪氏症的受試者的定量資料的方法，所述方法包括以下步驟：(a) 確定來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；(b) 在向所述受試者投予針對高雪氏症的治療性治療後，確定來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準。

【0067】 在實施例中，如果步驟 (b) 中確定的CD63水準與步驟 (a) 中確定的CD63水準基本上相同或大於步驟 (a) 中確定的CD63水準，則將增加所述治療性治療的劑量。在實施例中，所述治療性治療包括（例如，由以下組成）受質減少療法、伴護蛋白療法、酶替代療法或基因療法。在實施例中，所述治療包括向所述受試者投予文魯司他、依魯司他或米格魯他。在實施例中，所述治療包括向所述受試者投予重組葡萄糖腦苷脂酶，例如伊米昔酶。在實施例中，在開始所述治療性治療後至少8週，從所述受試者取得所述第二或後續樣品。

【0068】 另一態樣提供了CD63作為生物標記物用於監測被診斷為患有高

雪氏症的受試者的高雪氏症的進展、或者用於監測針對高雪氏症的治療進展、或者用於調整被診斷為患有高雪氏症的受試者的針對高雪氏症的治療性治療的劑量的用途。

【0069】 另一態樣提供了一種診斷疑似有風險患上MPS的受試者的MPS的方法，所述方法包括測量來自所述受試者的樣品中的CD63水準。

【0070】 在實施例中，由於出現以下情況中的一或多種，所述受試者疑似有風險患上MPS：MPS家族史、巨頭畸形、聽力損失、角膜混濁、異常牙列、僵硬、髖關節發育不良、爪形手、關節鬆弛、瓣膜增厚、左心室肥大、復發性呼吸道感染、阻塞性呼吸道疾病、肝腫大/脾腫大、臍疝/腹股溝疝、發展遲緩、腦室擴大、血管周圍間隙擴大、過度活躍或攻擊行為、白細胞顆粒異常、胎兒水腫、和蛋白尿。在實施例中，如果在來自所述受試者的樣品中測量的CD63水準大於對照值，則所述受試者被診斷為患有MPS，其中所述對照值被測量為從一或多個健康受試者取得的樣品中的CD63水準。在實施例中，如果在來自所述受試者的樣品中測量的CD63水準比所述對照值高至少約100%，則所述受試者被診斷為患有MPS。

【0071】 另一態樣提供了一種用於生成受試者的定量資料的方法，其中所述方法包括（例如，由以下組成）確定來自所述受試者的樣品中的CD63水準，其中所述受試者患有MPS或疑似患有MPS。

【0072】 另一態樣提供了CD63作為生物標記物在診斷疑似有風險患上MPS的受試者的MPS中的用途。

【0073】 另一態樣提供了CD63作為生物標記物以改善診斷受試者的MPS的方法的用途，視情況地其中CD63與一或多種糖胺聚糖（GAG）或聚糖一起用

作生物標記物。

【0074】 另一態樣提供了一種治療通過如上文所定義的方法已經被診斷為患有MPS的受試者的方法，所述治療包括向所述受試者投予針對MPS的一或多種治療性治療。

【0075】 另一態樣提供了一種治療有需要的患者的MPS的方法，其中所述患者具有高於正常的血漿CD63水準，所述方法包括向所述受試者投予有效量的針對MPS的治療性治療。

【0076】 另一態樣提供了一種用於生成受試者的定量資料的方法，其中所述方法包括：(a) 確定來自所述受試者的樣品中的CD63水準；(b) 確定CD63的水準是否大於對照值，其中所述對照值被測量為從一或多個健康受試者取得的樣品中的CD63水準；以及(c) 如果所述樣品中的CD63水準大於對照值，則對所述受試者施用針對MPS的一或多種治療性治療。

【0077】 在實施例中，所述一或多種治療性治療包括（例如，由以下組成）酶替代療法、基因療法和/或造血幹細胞移植。在實施例中，所述治療包括（例如，由以下組成）用 α -L-艾杜糖醛酸酶、艾杜糖醛酸酶-2-硫酸酯酶或乙醯肝素-N-硫酸酯酶的酶替代療法。

【0078】 另一態樣提供了一種用於治療受試者的MPS的治療劑，其中所述受試者已經通過如上文所定義的方法被診斷為患有MPS。

【0079】 在實施例中，所述治療劑是如上文所定義的治療性治療。

【0080】 另一態樣提供了一種用於監測被診斷為患有MPS的受試者的MPS的進展的方法，所述方法包括：(a) 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；(b) 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中所述第二

樣品是在從所述受試者取得所述第一樣品之後從所述受試者取得的；(c) 比較所述第一樣品中的CD63水準與所述第二樣品中的CD63水準；以及(d) 如果所述第二樣品中的CD63水準大於所述第一樣品中的CD63水準，則確定所述受試者的MPS變得更加嚴重，如果所述第二樣品中的CD63水準與所述第一樣品中的CD63水準基本上相同，則確定所述受試者的MPS沒有進展，並且如果所述第二樣品中的CD63水準低於所述第一樣品中的CD63水準，則確定所述受試者的MPS變得不那麼嚴重。

【0081】 另一態樣提供了一種用於生成被診斷為患有MPS的受試者的定量資料的方法，所述方法包括以下步驟：(a) 確定來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；(b) 確定來自所述受試者的後續樣品中的CD63水準；以及(c) 將步驟 (a) 中確定的CD63水準與步驟 (b) 中確定的水準進行比較。

【0082】 在實施例中，所述樣品是血液樣品，例如血漿樣品。

【0083】 另一態樣提供了一種用於監測被診斷為患有MPS的受試者的針對MPS的治療進展的方法，所述方法包括：(a) 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；(b) 向所述受試者投予針對MPS的治療性治療；(c) 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中所述第二樣品是在投予所述治療性治療之後從所述受試者取得的；以及(d) 如果所述第二樣品中的CD63水準低於所述第一樣品中的CD63水準，則確定所述治療成功。

【0084】 另一態樣提供了一種治療或預防被評估為有風險患上MPS的受試者的MPS的發展或進展的方法，所述方法包括以下步驟：(a) 從所述受試者中取得第一生物樣品，並且分析所述樣品的CD63濃度；(b) 如果所述CD63濃度高於對照值，則開始對所述受試者進行針對MPS的治療性治療過程，並且視情況

地：(c) 在治療所述受試者之後，從所述受試者取得第二生物樣品，並且分析所述樣品的CD63濃度以確定CD63水準的變化；以及(d) 基於觀察到的CD63水準的變化調整所述治療性治療。

【0085】 另一態樣提供了一種用於調整接受針對MPS的治療性治療的受試者的所述治療性治療的劑量的方法，所述方法包括：(a) 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；(b) 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中所述第二樣品是在投予一或多個劑量的所述治療性治療之後從所述受試者取得的；以及(c) 基於所述第一樣品中的CD63水準與所述第二樣品中的CD63水準之間的差異來調整所述治療性治療的劑量。

【0086】 另一態樣提供了一種用於生成患有MPS的受試者的定量資料的方法，所述方法包括以下步驟：(a) 確定來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；(b) 在向所述受試者投予針對MPS的治療性治療後，確定來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準。

【0087】 在實施例中，如果步驟 (b) 中確定的CD63水準與步驟 (a) 中確定的CD63水準基本上相同或大於步驟 (a) 中確定的CD63水準，則將增加所述治療性治療的劑量。在實施例中，所述治療性治療包括（例如，由以下組成）酶替代療法、基因療法和/或造血幹細胞移植。在實施例中，所述治療包括（例如，由以下組成）用 α -L-艾杜糖醛酸酶、艾杜糖醛酸酶-2-硫酸酯酶或乙醃肝素-N-硫酸酯酶的酶替代療法。在實施例中，在開始所述治療性治療後至少8週，從所述受試者取得所述第二或後續樣品。

【0088】 另一態樣提供了CD63作為生物標記物用於監測被診斷為患有MPS的受試者的MPS的進展、或者用於監測針對MPS的治療進展、或者用於調

整被診斷為患有MPS的受試者的針對MPS的治療性治療的劑量的用途。

【0089】 另一態樣提供了一種用於檢測或診斷受試者的特定溶體儲積症的套組，所述套組包含：**(a)** 用於檢測來自所述受試者的樣品中的CD63的手段；和 **(b)** 用於檢測來自所述受試者的樣品中的所述溶體儲積症的一或多種生物標記物的手段。

【0090】 在實施例中，所述特定溶體儲積症是法布瑞氏症，並且所述套組包含：**(a)** 用於檢測來自所述受試者的樣品中的CD63的手段；和 **(b)** 用於檢測所述樣品中的法布瑞氏症的一或多種生物標記物的手段（例如，用於檢測所述樣品中的GL3和/或lyso-GL3的手段）。

【0091】 在其他實施例中，所述特定溶體儲積症是高雪氏症，並且所述套組包含：**(a)** 用於檢測來自所述受試者的樣品中的CD63的手段；和 **(b)** 用於檢測所述樣品中的高雪氏症的一或多種生物標記物的手段（例如，用於檢測所述樣品中的lyso-GL1的手段）。

【0092】 在又其他實施例中，所述溶體儲積症是MPS，並且所述套組包含：**(a)** 用於檢測來自所述受試者的樣品中的CD63的手段；和 **(b)** 用於檢測所述樣品中的MPS的一或多種生物標記物的手段。在實施例中：**(i)** 所述溶體儲積症是MPS I，並且所述套組在 **(b)** 部分中包含用於檢測樣品中的硫酸皮膚素和視情況地還有硫酸乙醯肝素的手段；**(ii)** 所述溶體儲積症是MPS II，並且所述套組在 **(b)** 部分中包含用於檢測樣品中的硫酸皮膚素和硫酸乙醯肝素的手段；或 **(iii)** 所述溶體儲積症是MPS III，並且所述套組在 **(b)** 部分中包含用於檢測樣品中的硫酸乙醯肝素的手段。

【0093】 在實施例中，所述用於檢測CD63的手段包含至少一種抗CD63抗

體。

【0094】 本文公開的化合物、組合物和方法的其他特徵和優點將從以下詳細描述中變得清楚。

【圖式簡單說明】

【0095】 圖1示出了與健康對照相比，在法布瑞氏症患者中，隨著時間的推移，臨床試驗中生物標記物對文魯司他治療的反應。所分析的生物標記物為：CD63（圖1A）- 標記為「線性NPX」，即標準化的蛋白質表現；GL3（圖1B）；和lyso-GL3（圖1C）。所有生物標記物均顯示對治療的反應。在試驗期期間，CD63和lyso-GL3不會恢復到對照水準。GL3在基線與對照之間沒有分離。

【0096】 圖2示出了CD63（圖2A）、GL3（圖2B）和lyso-GL3（圖2C）的估計邊際平均（ \log_2 ）值，縱向上示出了從基線到針對法布瑞氏症的文魯司他治療的156週。曲線上方的水平線表示統計學上顯著的差異，並且星形表示顯著差異的信賴度（*： $p < 0.05$ ，**： $p < 0.01$ ，***： $p < 0.001$ ，****： $p < 0.0001$ ）。CD63的首次顯著下降發生在第26週。

【0097】 圖3示出了從法布裡ACT/LTS文魯司他II期臨床試驗測量的生物標記物的類內相關係數（ICC）資料（10,000種排列）。ICC（圖3A）是患者之間變異性的量度，而ICC殘差（圖3C）是患者內部變異性的量度。ICC分佈截距示出於圖3B中。每個圖從左到右示出了： $\log_2(\text{CD63})$ ； $\log_2(\text{GL3})$ ；和 $\log_2(\text{lyso-GL3})$ 。CD63和lyso-GL3具有可比的受試者內變異性，但是兩者均遠低於GL3。

【0098】 圖4示出了比較健康受試者（左）和患病、經治療的高雪氏症患者（右）的CD63值（ \log_2 ）的分佈的概率密度函數；樣品中繼資料列於下表2中。

兩組之間有統計學上顯著的分離，並且疾病患者中的CD63上調（威爾科克森檢定（Wilcoxon test）： $p = 8.89e^{-10}$ ）。

【0099】 圖5示出了成對的義大利面圖，以視覺化高雪氏症患者中CD63（圖5A）、lyso-GL1（LGL1；圖5B）和幾丁三糖苷酶（CHITO；圖5C）的患者內變異性。通過繪製相鄰時間點之間的生物標記物變化（即，與先前測量結果相比的變化）來視覺化受試者內變異性。圖中包括的所有患者都接受針對高雪氏症的治療數年，代表了治療中的生物標記物穩定狀態。每位患者的結果均示出在單獨的線上（並且呈不同的線樣式）。注意，並非在每個時間點都收集所有患者的資料。Lyso-GL1和CHITO看起來比CD63有更大變異性，並且這在圖6中得到證實。

【0100】 圖6示出了CD63與其他生物標記物之間的相關性。圖6A至圖6C示出了從下表2中概述的高雪氏症群組測量的生物標記物的類內相關係數（ICC）資料（10,000種排列）。ICC（圖6A）是患者之間變異性的量度，而ICC殘差（圖6C）是患者內部變異性的量度。ICC分佈截距示出於圖6B中。每個圖從左到右示出了： $\log_2(\text{CD63})$ ； $\log_2(\text{lyso-GL1})$ ；和 $\log_2(\text{CHITO})$ 。注意，CD63的患者內變異性顯著低於lyso-GL1或CHITO。圖6D以另一種方式呈現了相關性：資料點示出了來自高雪氏症患者的樣品中的CD63水準，對比lyso-GL1水準（淺灰色圓形）、CCL18水準（黑色三角形）和幾丁三糖苷酶活性（深灰色正方形）。示出了最佳擬合的線，其中lyso-GL1（下方線，淺灰色）具有 $r = 0.65$ 且 $p < 0.0001$ ；CCL18（中間線，黑色）具有 $r = 0.63$ 且 $p = 0.0119$ ，並且幾丁三糖苷酶（上方線，深灰色）具有 $r = 0.78$ 且 $p < 0.0001$ 。

【0101】 圖7示出了比較健康受試者和患病MPS患者的CD63值（ \log_2 ）的

分佈的概率密度圖（圖7A）；所有樣品中繼資料列於下表3中。圖右側的陰影區域含有來自所有3個MPS子類型的資料。右側陰影區域內的曲線表示不同MPS子類型的分佈（用箭頭示出）。健康分佈與MPS分佈之間的統計差異示出於圖8C中。還示出了男性與女性MPS疾病受試者之間CD63值的比較（圖7B）。在 $\alpha = 0.05$ 時，兩種分佈在統計學上沒有差異（ $p = 0.0746$ ）。

【0102】圖8示出了單獨針對男性和女性患者（和對照）分析的法布瑞氏症（圖8A）、高雪氏症（圖8B）和MPS（圖8C）研究的結果。每個圖中都提供了P值。 $p > 0.05$ 的唯一實例是女性法布瑞氏症患者。

【0103】圖9示出了與健康對照相比，來自男性成年法布瑞氏症患者（基線）的樣品的Olink[®]蛋白質組譜分析。具有至少1.5倍變化且 $p < 0.05$ 的蛋白質被認為是顯著的並且以灰色示出。CD63被圈出。

【0104】圖10示出了與MPS I（中間圖）和MPS II（最右圖）患者相比，來自健康對照（最左圖）的CSF樣品中的CD63水準的箱形圖。

【0105】圖11示出了與3型高雪氏症（GD3）患者相比，來自健康對照的CSF樣品中的CD63水準；在以下三個時間點採集GD3樣品：基線、用文魯司他和伊米苷酶治療的26週和52週。GD3患者的平均水準在基線時與健康對照相比升高，並且隨著時間的推移降低（圖11A）。這一趨勢也在單獨患者中看到（圖11B）。

【實施方式】

【0106】儘管本公開文本的特定的實施例現在將參考製備和方案進行描述，但是應當理解，此類實施例僅通過舉例的方式，並且僅對可以表示本公開文本的原理的應用的許多可能的特定的實施例中的少量進行說明。考慮到本公

開文本的益處，多種變化和修飾對於本領域技術人員來說將是顯而易見的，並且如在所附申請專利範圍中進一步定義的，所述多種變化和修飾被認為是在本公開文本的精神和範圍內。

定義

【0107】 除非另外定義，否則本文所用的全部技術和科學術語具有與本公開文本所屬領域的普通技術人員通常所理解的相同的意義。儘管在本公開文本的實施或測試中可以使用任何相似於或等效於本文中所述那些的任何方法和材料，現在描述示例性方法、設備和材料。本文所引用的全部技術和專利公開通過引用以其整體併入本文。本文的任何內容都不應解釋為承認本公開文本因在先公開文本而無權早於這樣的披露內容。

【0108】 除非另有指示，本公開文本將採用組織培養、免疫學、分子生物學、微生物學、細胞生物學和重組DNA的常規技術，這些在本領域的技能之內。參見例如，Michael R. Green和Joseph Sambrook, *Molecular Cloning* (第4版, Cold Spring Harbor Laboratory Press 2012)；叢書Ausubel等人編輯(2007) *Current Protocols in Molecular Biology*；叢書Methods in Enzymology (Academic Press, Inc., N.Y.)；MacPherson等人, (1991) *PCR 1: A Practical Approach* (IRL Press at Oxford University Press)；MacPherson等人, (1995) *PCR 2: A Practical Approach*；Harlow和Lane編輯(1999) *Antibodies, A Laboratory Manual*；Freshney (2005) *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique*, 第5版；Gait編輯 (1984) *Oligonucleotide Synthesis*；美國專利號4,683,195；Hames和Higgins編輯(1984) *Nucleic Acid Hybridization*；Anderson (1999) *Nucleic Acid Hybridization*；Hames和Higgins編輯

(1984) Transcription and Translation ; Immobilized Cells and Enzymes (IRL Press (1986)) ; Perbal (1984) A Practical Guide to Molecular Cloning ; Miller和Calos編輯 (1987) Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (Cold Spring Harbor Laboratory) ; Makrides編輯 (2003) Gene Transfer and Expression in Mammalian Cells ; Mayer和Walker編輯(1987) Immunochemical Methods in Cell and Molecular Biology (Academic Press, London) ; Herzenberg等人, 編輯 (1996) Weir's Handbook of Experimental Immunology ; Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual, 第3版 (Cold Spring Harbor Laboratory Press (2002)) ; Sohail (編輯) (2004) Gene Silencing by RNA Interference: Technology and Application (CRC Press) 。

【0109】 所有數位名稱，例如pH、溫度、時間、濃度、分子量等（包括範圍），都是以例如0.1或1.0的增量變化（（+）或（-））的近似值（在適當的時候）。應當理解，儘管不總是明確說明，在所有數字表現前面加上術語「約」。還應理解，儘管不總是明確說明，本文描述的試劑僅是示例性的並且其等效物為本領域所知。

【0110】 除非上下文另有明確指示，如說明書和申請專利範圍中所用，單數形式「一個/一種（a/an）」以及「所述（the）」包括複數指示物。例如，術語「細胞」包括多個細胞，包括其混合物。除非特別說明或在上下文中顯而易見，如本文所用，術語「或」應理解為包含性的。術語「包括」在本文中用於意指短語「包括但不限於」並且可與其互換使用。

【0111】 如本文所用，術語「包含（comprising或comprises）」旨在表示組合物和方法包括所列舉的要素，但不排除其他要素。

【0112】 當用於定義組合物和方法時，「基本上由.....組成」應意指排除

出於所述目的的任何重要意義的其他要素。因此，基本上由本文定義的要素組成的組合物將不排除來自分離和純化方法的微量污染物和醫藥上可接受的載劑，諸如磷酸鹽緩衝鹽水、防腐劑等。

【0113】 「由.....組成」應意指排除比微量要素更多的其他成分以及用於投予本公開文本組合物的實質性方法步驟，或用以生產組合物或實現預期結果的方法步驟。由這些過渡術語中的每一個定義的實施例均在本公開文本的範圍內。本文中術語「包含」的使用旨在涵蓋並公開相應的陳述，其中術語「包含」被「基本上由.....組成」或「由.....組成」替代。

【0114】 「受試者」、「個體」或「患者」在本文中可互換使用，並且是指脊椎動物，諸如哺乳動物。哺乳動物包括但不限於鼠類、大鼠、兔、猿猴、牛類、羊類、豬類、犬類、貓類、家畜、運動動物、寵物、馬類、靈長類動物和人類。在實施例中，所述哺乳動物包括馬、狗和貓。在實施例中，所述哺乳動物是人。

【0115】 「投予」在本文中被定義為以導致藥劑與受試者身體接觸(例如，在體內)的方式向受試者提供藥劑或含有所述藥劑的組合物的手段。此類投予可以是通過任何途徑，包括但不限於口服、經皮(例如，陰道、直腸或口腔粘膜)、通過注射(例如，皮下、靜脈內、腸胃外、腹膜內、進入CNS)、或通過吸入(例如，口腔或鼻腔)。投予還可以涉及向受試者身體表面的一部分提供物質或組合物，例如通過局部投予至皮膚。當然，以適合每種投予途徑的形式給予藥物製劑。

【0116】 疾病的「治療(Treating或treatment)」包括：(1) 防止疾病在可能易感所述疾病但是尚未經歷或展現出所述疾病的症狀的患者中出現，即引起

疾病的臨床症狀；(2) 抑制疾病，即阻止或減少疾病或其臨床症狀的發展；和/或(3) 緩解疾病，即引起疾病或其臨床症狀的消退。

【0117】 特別地，與溶體儲積症相關的術語「遭受」（或「患有」）是指已經患上所述疾病的至少一些特徵性病理和/或正在展示出所述疾病的一或多種體徵（例如，所述疾病的一或多種生物標記物特徵）的患者或個體，不管他們實際上是否被診斷出患有所述疾病。在患者易患疾病（例如，在其家族譜系中有病史或者由於存在與所述疾病相關的基因突變）但是他們尚未患上所述疾病的全部或一些特徵性病理的情況下，他們可能被稱為「有風險患上這種疾病」。

【0118】 「有效量」或「治療有效量」是足以實現有益或所希望結果的量。可以將有效量以一次或多次投予、應用或用劑來投予。此類遞送取決於許多變數，包括使用單獨劑量單位的時間段、治療劑的生物利用度、投予途徑等。然而，應當理解，用於任何特定受試者的治療劑的特定劑量水準取決於多種因素，包括例如所用特定化合物的活性，受試者的年齡、體重、一般健康狀況、性別和飲食，投予時間，排泄率，藥物組合，以及正在治療的特定障礙的嚴重性、和投予形式。通常可以逐步調整治療劑量以優化安全性和功效。典型地，來自體外和/或體內測試的劑量-效應關係最初可以提供關於患者投予的適當劑量的有用指導。通常，人們將希望投予有效達到與在體外發現有效的濃度相稱的血清水準的量的化合物。這些考慮因素以及有效的配製品和投予程序是本領域熟知的，並且描述於標準教科書中。與此定義一致，如本文所用，術語「治療有效量」是足以治療（例如，改善）與溶體儲積症相關的一或多種症狀的量。例如，口服投予可能需要0.1 mg至1000 mg活性劑的每日總劑量。每日總劑量可以以單個或分個劑量投予，並且根據醫生的決定可以超出本文給出的典型範圍。

【0119】 當本文提及化合物，例如依魯司他或文魯司他時，這些化合物包括化合物本身以及其醫藥上可接受的鹽。例如，對「依魯司他」的提及包括半酒石酸依魯司他，並且對「文魯司他」的提及包括蘋果酸文魯司他。文魯司他是(S)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基-N-[2-[2-(4-氟苯基)-1,3-噻唑-4-基]丙-2-基]胺基甲酸酯。依魯司他是N-[(1R,2R)-1-(2,3-二氫-1,4-苯並二氧雜苯-6-基)-1-羥基-3-吡咯啉-1-基丙-2-基]辛醯胺。

【0120】 在適當的情況下，本文提供的任何實施例（例如，方法）可以與本文提供的任何一或多個其他實施例（例如，方法）組合。

【0121】 在本文中使用的縮寫：

α -Gal	α -半乳糖苷酶A
BCA	二喹啉甲酸
BL	基線
BSA	牛血清白蛋白
CCL18	趨化介素（C-C基序）配體18
cDNA	互補DNA
CHITO	幾丁三糖苷酶
CNS	中樞神經系統
CS	硫酸軟骨素
CSF	腦脊液
CV	信賴值
DNA	去氧核糖核酸
DS	硫酸皮膚素

ELISA	酶聯免疫吸附測定
ERT	酶替代療法
ESI	電噴霧電離
FACS	螢光輔助細胞分選
FD	法布瑞氏症
GAG	糖胺聚糖
<i>GBA</i>	葡萄糖腦苷脂酶基因
GC酶	葡萄糖腦苷脂酶（也稱為酸性 β -葡糖苷酶）
GD	高雪氏症
GD3	3型高雪氏症
GI	胃腸道
GL1	葡糖神經醯胺
GL3	球形三醯神經醯胺
GM1	單唾液酸四己糖神經節苷脂
GM2	單唾液酸三己糖神經節苷脂
GM3	單唾液酸二己糖神經節苷脂
HS	硫酸乙醯肝素
HSCT	造血幹細胞移植
ICC	類內相關係數
IDUA	α -L-艾杜糖醛酸酶
IQ	智商
KS	硫酸角質素

LCMS	液相層析質譜法
LC-MS/MS	液相層析串聯質譜法
LSD	溶體儲積症
lyso-GL1	葡糖鞘胺醇（也稱為LGL1）
lyso-GL3	球形三脂醯基鞘胺醇
MPS	粘多糖病（mucopolysaccharidosis）（或粘多糖病（mucopolysaccharidoses））
NCL	神經元蠟樣質脂褐質沈積症
NPX	標準化蛋白質表現
PEA	鄰近延伸測定
PBS	磷酸鹽緩衝鹽水
PCR	聚合酶鏈式反應
RNA	核糖核酸
SD	標準差
SEM	平均值的標準誤差
SRT	受質減少療法
Tris	三(羥基甲基)胺基甲烷
UPLC	超高效液相層析法
WK	週

一般性診斷或檢測溶體儲積症的方法

【0122】 本文提供了一種診斷受試者患有或有風險患上溶體儲積症的方法

法，所述方法包括測量來自所述受試者的樣品中的CD63水準。此方法的優點是能夠檢測許多LSD共有的醣神經鞘脂質途徑中的不規則性。因此，所述方法能夠提供溶體儲積症的一般診斷，即，診斷不必限於單一疾病狀態的評估，而是提供溶體功能和醣神經鞘脂質加工的更全面的圖景。因此，相關態樣提供了一種檢測或診斷受試者的溶體功能障礙的方法，所述方法包括測量來自所述受試者的樣品中的CD63水準。另一個相關態樣提供了一種檢測或診斷受試者的異常醣神經鞘脂質加工的方法，所述方法包括測量來自所述受試者的樣品中的CD63水準。在實施例中，CD63是在上述方法中採用的唯一生物標記物。

【0123】 其他相關態樣提供了CD63作為生物標記物在受試者的溶體儲積症的診斷中的用途。相關態樣提供了CD63作為生物標記物在檢測或診斷受試者的溶體功能障礙中的用途。相關態樣提供了CD63作為生物標記物在檢測或診斷受試者的異常醣神經鞘脂質加工中的用途。在實施例中，CD63用作所述檢測和/或診斷中的唯一生物標記物。

【0124】 以另一種方式來看，這些態樣提供了一種用於生成受試者的定量資料的方法，所述方法包括確定來自所述受試者的樣品中的生物標記物的水準，其中所述生物標記物是CD63。在實施例中，所述方法包括確定單一生物標記物（即，CD63）的水準。

【0125】 雖然待評估的受試者可能已經被鑒定為有風險患上LSD或疑似患有LSD（例如，通過考慮家族史或臨床觀察），但可以設想，本發明方法將在尚未評估溶體疾病或功能障礙的風險因素的受試者上進行。因此，在實施例中，所述受試者先前未被診斷為患有LSD和/或未被評估與溶體功能障礙或異常醣神經鞘脂質加工相關的風險因素。此類風險因素包括但不限於，具有已知引起LSD

的基因突變的父母的受試者；包括阿什肯納茲猶太人、芬蘭人、亞洲人或荷蘭人血統的父母；或彼此有血緣關係的父母。

【0126】 如上所提到的，本發明方法可以提供溶體儲積症的一般診斷。不希望受理論束縛，假定所述方法可以適於診斷一大類疾病，包括法布瑞氏症、克拉伯病、高雪氏症（例如，1型、2型和3型）、尼曼-匹克病（例如，A型、B型和C型）、異染性腦白質營養不良、法伯病、克拉伯病、半乳糖唾液酸儲積症、辛德勒病（Schindler disease）、GM1神經節苷脂儲積症、GM2神經節苷脂儲積症（例如，AB變體、桑德霍夫病（Sandhoff disease）和泰-薩克斯病（Tay-Sachs disease））、GM3神經節苷脂儲積症、溶體酸性脂肪酶缺乏症、沃爾曼病、膽固醇酯儲積症、多種硫酸酯酶缺乏症、龐貝氏症、達農病（Danon disease）、薩拉病（Salla disease）、 α -甘露糖苷儲積症、 β -甘露糖苷儲積症、天門冬胺醯葡萄糖胺尿症、岩藻糖苷儲積症、MPS I（例如，賀勒氏症、施艾氏症候群（Scheie syndrome）和賀勒-施艾氏症候群（Hurler-Scheie syndrome））、MPS II（例如，亨特氏症候群（Hunter syndrome））、MPS III（例如，沙費利波症候群A型、B型、C型和D型）、MPS IV型（例如，莫基奧症候群A型和B型）、MP VI型（例如，馬婁托-拉米氏症候群（Maroteaux-Lamy syndrome））、MPS VII型（例如，史萊氏症候群（Sly syndrome））、MPS IX型（例如，玻尿酸酶缺乏症）、粘脂貯積症（例如，唾液酸儲積症、包涵體細胞病、假性賀勒氏多種營養不良症/磷酸轉移酶缺乏症、和粘脂蛋白1缺乏症）、和神經元蠟樣質脂褐質沈積症（例如，桑塔沃裡-哈爾蒂亞病（Santavuori-Haltia disease）/嬰兒期NCL、詹-比二氏病（Jansky-Bielschowsky disease）/嬰兒晚期NCL、巴斯-沃三氏病（Batten-Spielmeyer-Vogt disease）/青少年NCL、庫夫斯病/成人NCL、芬蘭人變

體/5型、嬰兒晚期變體/6型、7型、北方癲癇型/土耳其人嬰兒晚期/8型、德國人/塞爾維亞人嬰兒晚期/9型和先天性組織蛋白酶D缺乏症)。因此，在實施例中，所述受試者被診斷為患有或有風險患上選自上述病症的溶體儲積症。在其他實施例中，所述受試者被診斷為患有或有風險患上選自以下的溶體儲積症：法布瑞氏症、克拉伯病、高雪氏症（例如，1型、2型和3型）、異染性腦白質營養不良、法伯病、克拉伯病、半乳糖唾液酸儲積症、辛德勒病、GM1神經節苷脂儲積症、GM2神經節苷脂儲積症（例如，AB變體、桑德霍夫病和泰-薩克斯病）、GM3神經節苷脂儲積症、溶體酸性脂肪酶缺乏症、沃爾曼病、膽固醇酯儲積症、多種硫酸酯酶缺乏症、龐貝病（例如，嬰兒期發作的龐貝病）、達農病、薩拉病、 α -甘露糖苷儲積症、 β -甘露糖苷儲積症、天門冬胺醯葡萄糖胺尿症、岩藻糖苷儲積症、MPS I（例如，賀勒氏症、施艾氏症候群和賀勒氏-施艾氏症候群）、MPS II（例如，亨特氏症候群）、MPS III（例如，沙費利波症候群A型、B型、C型和D型）、MPS IV型（例如，莫基奧症候群A型和B型）、MP VI型（例如，馬婁托-拉米氏症候群）、MPS VII型（例如，史萊氏症候群）、MPS IX型（例如，玻尿酸酶缺乏症）、粘脂貯積症（例如，唾液酸儲積症、包涵體細胞病、假性賀勒氏多種營養不良症/磷酸轉移酶缺乏症、和粘脂蛋白1缺乏症）、和神經元蠟樣質脂褐質沈積症（例如，桑塔沃裡-哈爾蒂亞病/嬰兒期NCL、詹-比二氏病/嬰兒晚期NCL、巴-斯-沃三氏病/青少年NCL、庫夫斯病/成人NCL、芬蘭人變體/5型、嬰兒晚期變體/6型、7型、北方癲癇型/土耳其人嬰兒晚期/8型、德國人/塞爾維亞人嬰兒晚期/9型和先天性組織蛋白酶D缺乏症)。在又其他實施例中，所述受試者被診斷為患有或有風險患上選自以下的溶體儲積症：法布瑞氏症、高雪氏症、MPS I型、MPS II型和MPS III型。在實施例中，所述高雪氏症是高雪氏症

1型、2型或3型（例如，3型）。

【0127】 來自確定或測量CD63的受試者的樣品可以是含有溶體、外泌體和/或在溶體功能受損後CD63可能積累的其他細胞級分的任何樣品。樣品可以基本上由一種樣品類型（例如，一種組織或流體類型）組成，或者它可以由多種樣品類型（例如，幾種組織和/或流體類型）組成。樣品類型可以例如選自血液、血液級分、尿液、腦脊液、痰、淋巴、真皮組織、腎臟組織、心臟組織、脾臟組織、骨髓等。最便利地，樣品是可以以相對非侵入性方式獲得的類型。因此，在實施例中，來自受試者的樣品包括（例如，由以下組成）血液、血液級分和/或尿液。在特定實施例中，來自受試者的樣品包括（例如，由以下組成）選自血漿和血清的血液級分。在其他實施例中，來自受試者的樣品包括（例如，由以下組成）CSF。

【0128】 在進行溶體儲積症的診斷或者檢測溶體功能障礙或異常糖神經鞘脂質加工時，典型地將樣品中的CD63水準與對照值進行比較，以確定其是否在正常（例如，健康）範圍內或在正常範圍外。任何給定樣品類型的正常值範圍的確定在本領域技術人員的能力範圍內。如本文詳細描述的，典型地使用免疫測定諸如ELISA（儘管也可以採用其他方法（例如，如本文所述））進行樣品中CD63的檢測和定量。對於合適的ELISA套組，存在多個商業來源，諸如下文和實例中提及的那些。

【0129】 在實施例中，所述方法包括測量來自所述受試者的樣品中的CD63水準（即，測試樣品水準），並且將該水準與對照值進行比較，其中如果測試樣品水準大於對照值，則認為所述測試樣品水準在正常範圍之外。在一個實施例中，對照值是基線CD63水準，所述基線CD63水準是先前在同一受試者中（即，

在來自受試者的較早樣品中)測量的,例如在從受試者獲得測試樣品之前至少1個月(例如,在從受試者獲得測試樣品之前至少2個月、3個月、6個月、9個月、12個月、18個月或24個月)測量的。對照值可以表示在來自受試者的單一較早樣品中測量的CD63水準,或者它可以是來自多個較早樣品的值的平均值。在替代性實施例中,對照值是從健康受試者(即,未患有且沒有風險患上溶體儲積症的受試者)取得的樣品中的CD63水準(或健康受試者群組的平均值),諸如上文列出的那些。在實施例中,例如通過年齡和/或性別將健康受試者與評估的受試者進行匹配。在特定實施例中,對照值表示在本發明方法中評估的同一類型樣品(例如,已經以與測試樣品相同的方式獲得、處理和/或儲存的樣品)中的CD63水準。例如,在本發明方法利用血漿樣品的情況下,對照值典型地表示對照血漿樣品(例如,從同一受試者取得的較早血漿樣品或從一或多個健康受試者獲得的血漿樣品)中的CD63水準。

【0130】 在CD63濃度的對照值是點值(或平均值,例如平均的值)的實施例中,如果測試樣品中的CD63水準在數值上大於對照值,則認為測試樣品中的CD63水準在正常範圍之外。例如,它可以比對照值大至少約5%,例如比對照值大至少約7.5%、10%、12.5%、15%、20%、25%、30%、40%、50%、75%或100%。特別地,它可以比對照值大至少約125%,例如比對照值大至少約150%、175%、200%、250%、300%、350%、400%或500%。在實施例中,測試樣品中的CD63水準比對照值大約200%至約700%(例如,大約300%至約500%,或大約350%至約450%)。

【0131】 在CD63濃度的對照值是數值範圍(例如,通過圍繞平均值的一些變異性來描述)的實施例中,如果測試樣品中的CD63水準比平均值大超過約1

個標準誤差，例如大於平均值超過約1.0個、1.1個、1.2個、1.3個、1.4個、1.5個、1.6個、1.7個、1.8個、1.9個、2.0個、2.5個或3.0個標準誤差，則認為測試樣品中的CD63水準在正常範圍之外。在其他實施例中（例如，在患者是女性和/或疑似患有或有風險患上法布瑞氏症的情況下），如果測試樣品中的CD63水準大於平均值超過約0.25個標準誤差，例如大於平均值超過約0.3個、0.4個、0.5個、0.6個、0.7個、0.8個或0.9個標準誤差，則認為測試樣品中的CD63水準在正常範圍之外。

【0132】 因此，在實施例中提供了一種診斷受試者患有或有風險患上溶體儲積症的方法，所述方法包括：

- 測量來自所述受試者的測試樣品（例如，血漿樣品）中的CD63水準；
- 將測試樣品中測量的水準與對照值進行比較，其中所述對照值被測量為在較早時間點從同一受試者或從一或多個健康受試者取得的樣品（例如，血漿樣品）中的CD63水準；以及
- 如果測試樣品中測量的水準大於對照值，則將所述受試者診斷為患有或有風險患上溶體儲積症。

【0133】 在其他實施例中，提供了檢測或診斷受試者的溶體功能障礙的方法，所述方法包括：

- 測量來自所述受試者的測試樣品（例如，血漿樣品）中的CD63水準；
- 將測試樣品中測量的水準與對照值進行比較，其中所述對照值被測量為在較早時間點從同一受試者或從一或多個健康受試者取得的樣品（例如，血漿樣品）中的CD63水準；以及
- 如果測試樣品中測量的水準大於對照值，則檢測或診斷所述受試者的溶

體功能障礙。

【0134】 在其他實施例中，提供了檢測或診斷受試者的異常醣神經鞘脂質加工的方法，所述方法包括：

- 測量來自所述受試者的測試樣品（例如，血漿樣品）中的CD63水準；
- 將測試樣品中測量的水準與對照值進行比較，其中所述對照值被測量為在較早時間點從同一受試者或從一或多個健康受試者取得的樣品（例如，血漿樣品）中的CD63水準；以及
- 如果測試樣品中測量的水準大於對照值，則檢測或診斷受試者的異常醣神經鞘脂質加工。

【0135】 上述實施例可以視情況地包括從受試者獲得測試樣品的步驟，例如，取得血液樣品並且視情況地將血液樣品分離成其級分（例如，血漿樣品）。

診斷、治療和監測特定病症的方法

【0136】 如上所詳述的，CD63不僅可用於檢測和診斷溶體功能障礙和異常醣神經鞘脂質加工，還可以用作特定溶體儲積症的診斷、監測和治療性治療的生物標記物。

【0137】 因此，在一態樣提供了一種用於診斷受試者的特定溶體儲積症（例如，如本文所定義的病症）的方法，所述方法包括測量來自所述受試者的樣品中的CD63水準。相關態樣提供了CD63作為生物標記物在診斷受試者的特定溶體儲積症中的用途。以另一種方式來看，這些態樣提供了一種用於生成可能疑似有風險患上特定溶體儲積症的受試者的定量資料的方法，所述方法包括確定來自所述受試者的樣品中的CD63水準。相關態樣提供了CD63作為生物標記物

以改善診斷受試者的特定溶體儲積症的方法的用途。

【0138】 應當理解，在本發明方法針對特定病症的情況下，這些態樣典型地將依賴於來自受試者的測試樣品中除CD63水準之外的另外的量度。例如，所述方法可以在已經疑似有風險患上特定LSD的受試者上進行，和/或它們可以採用對所討論的病症具有特徵性的其他生物標記物。通過鑒定特定的風險因素，諸如疾病的家族史、基因檢測、其他特徵生物標記物的分析、臨床症狀等，可以認為受試者有風險患上所述疾病。在這種情況下，典型地在評估風險因素後測量來自受試者的樣品中的CD63水準，使得受試者已經被認為有風險患上所述疾病；在這裡，CD63測量的作用是確認該受試者的溶體功能障礙的診斷並且從而確認疾病。可替代地，將來自受試者的樣品中的CD63水準的測量與疾病的一或多種其他特徵性量度（例如，作為用於診斷目的的生物標記物組的一部分）一起使用。在這種情況下，CD63測量用於提高診斷的準確性，例如，以降低測試受試者群體中的假陽性的比例和/或增加真陽性的比例（與其中不考慮CD63水準的相應診斷方法相比）。

【0139】 對受試者的特定溶體儲積症的這種診斷可以用於指導針對所述疾病的治療性治療。因此，在一態樣提供了一種通過如上文所定義的方法治療已經被診斷為患有特定溶體儲積症的受試者的方法，所述治療包括向所述受試者投予針對所述疾病的一或多種治療性治療。相關態樣提供了一種用於治療受試者的特定溶體儲積症的治療劑，其中所述受試者已經通過如上文所定義的方法被診斷為患有所述疾病。還提供了一種用於生成受試者的定量資料的方法，其中所述方法包括（例如，由以下組成）：**(a)** 確定來自所述受試者的樣品中的CD63水準；**(b)** 確定CD63的水準是否大於對照值（例如，被測量為從一或多個

健康受試者取得的樣品中的CD63水準的對照值)；以及 (c) 如果所述樣品中的CD63水準大於所述對照值，則對所述受試者施用針對特定溶體儲積症的一或多種治療性治療。在實施例中，治療性治療（例如，待投予的藥劑）包括（例如，由以下組成）通常已知治療所討論的疾病的療法類型，例如受質減少療法、伴護蛋白療法、酶替代療法和/或基因療法。

【0140】 CD63水準也可以用於監測特定溶體儲積症的進展，例如監測疾病的天然時間過程（例如，評估開始治療性干預的正確時間）或監測治療性干預對疾病的影響（例如，評估治療的功效，作為劑量調整的指南等）。

【0141】 因此，在一態樣提供了一種用於監測被診斷為患有特定溶體儲積症的受試者的所述疾病的進展的方法，所述方法包括將來自受試者的第一樣品中的CD63水準與來自受試者的第二樣品中的CD63水準進行比較，其中第二樣品是在從所述受試者取得第一樣品之後從受試者取得的。典型地，所述方法將確定：如果第二樣品中的CD63水準大於第一樣品中的CD63水準，則疾病變得更加嚴重，或者如果第二樣品中的CD63水準與第一樣品中的CD63水準基本上相同，則受試者的疾病變沒有進展，或者如果第二樣品中的CD63水準低於第一樣品中的CD63水準，則疾病變得不那麼嚴重。相關態樣提供了CD63作為生物標記物用於監測被診斷為患有特定溶體儲積症的受試者的所述疾病的進展的用途。以另一種方式來看，這些態樣提供了一種用於生成被診斷為患有特定溶體儲積症的受試者的定量資料的方法，所述方法包括以下步驟：(a) 確定來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；(b) 確定來自所述受試者的後續樣品中的CD63水準；以及(c) 將步驟 (a) 中確定的CD63水準與步驟 (b) 中確定的水準進行比較。

【0142】 另一態樣提供了一種用於監測被診斷為患有特定溶體儲積症的

受試者的針對所述疾病的治療進展的方法，所述方法包括：(a) 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；(b) 向所述受試者投予針對特定溶體儲積症的治療性治療（例如，如本文所定義的治療）；以及(c) 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中所述第二樣品是在投予所述治療性治療之後從所述受試者取得的。典型地，所述方法進一步包括步驟(d)：如果所述第二樣品中的CD63水準低於所述第一樣品中的CD63水準，則確定所述治療成功。在實施例中，如果步驟(c)中確定的CD63水準與步驟(a)中確定的CD63水準基本上相同或大於步驟(a)中確定的CD63水準，則將增加所述治療性治療的劑量。相關態樣提供了CD63作為生物標記物用於監測被診斷為患有特定溶體儲積症的受試者的所述疾病的治療進展的用途。以另一種方式來看，這些態樣提供了一種用於生成患有特定溶體儲積症的受試者的定量資料的方法，所述方法包括以下步驟：(a) 確定來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；以及(b) 在向所述受試者投予針對所述疾病的治療性治療後，確定來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準。在實施例中，如果步驟(b)中確定的CD63水準與步驟(a)中確定的CD63水準基本上相同或大於步驟(a)中確定的CD63水準，則將增加所述治療性治療的劑量。

【0143】 另一態樣提供了一種治療有需要的患者的溶體儲積症的方法，其中所述患者具有高於正常的血漿CD63水準，例如比健康受試者群體的平均值高至少約0.25個標準差（諸如至少約0.5個、0.75個、1個、或1.5個標準差）的水準。在實施例中，所述治療方法包括向患者投予有效量的能夠治療溶體儲積症的治療性治療。在實施例中，所述治療性治療是能夠治療溶體儲積症的受質減少療法和/或酶替代療法（例如，如本文所述）。

【0144】 可以例如通過如本文所述的方法（諸如實例中詳細描述的Olink[®]

測定) 確定正常血漿水準。在實施例中，健康受試者群體是具有相似遺傳背景的群體，例如，與患者具有相同血統和/或地理位置的群體。在實施例中，溶體儲積症是法布瑞氏症、高雪氏症(例如，高雪氏症1型、2型或3型)或MPS(例如，MPS I型、II型或III型)。

【0145】 另一態樣提供了一種治療被診斷為有風險患上溶體儲積症的受試者的所述溶體儲積症的方法，其中所述患者的血漿CD63水準高於先前從受試者取得的樣品中的對照水準，例如，比血漿對照水準高至少約10%(諸如比血漿對照水準高至少約20%、30%、40%、50%、60%、80%或100%)。在實施例中，所述治療方法包括向受試者投予有效量的能夠治療溶體儲積症的受質減少療法或酶替代療法(例如，如本文所述)。

【0146】 在實施例中，所述溶體儲積症是法布瑞氏症(例如，其中受試者是男性)、高雪氏症(例如，高雪氏症1型、2型或3型)或MPS(例如，MPS I型、II型或III型)。在實施例中，血漿對照水準來自在測量所述血漿CD63水準之前約1與約52週之間(例如，4與32週之間，或12與26週之間，諸如約12週、16週、22週、26週或30週)，從受試者抽取的樣品。在實施例中，對照值是通過測量從受試者抽取的單一樣品中的CD63水準而得出的。在其他實施例中，對照值是從測量從受試者抽取的多個樣品(例如，2、3、4、6、8或更多個樣品)中的CD63水準得出的平均值。

【0147】 另一態樣提供了一種治療或預防被評估為有風險患上溶體儲積症的受試者的所述疾病的發展或進展的方法，所述方法包括以下步驟：(a) 從所述受試者中取得第一生物樣品(例如，血液或血液級分，諸如血漿)，並且分析所述樣品的CD63濃度；(b) 如果所述CD63濃度高於對照值，開始對所述受試

者進行治療性治療過程（例如，治療有效量的能夠治療所述溶體儲積症的受質減少療法或酶替代療法（例如，如本文所述）），以及視情況地：(c) 在治療所述受試者之後，從所述受試者取得第二生物樣品（例如，與第一生物樣品同一類型）並且分析所述樣品的CD63濃度以確定CD63水準的變化；以及(d) 基於觀察到的CD63水準的變化調整所述治療性治療。

【0148】 在實施例中，對照值比先前從同一受試者取得的樣品中的對照水準高約10%（例如，比對照水準高約20%、30%、40%、50%、60%、80%或100%）。在實施例中，對照水準是通過測量從受試者抽取的單一樣品中的CD63水準而得出的。在其他實施例中，對照值是從測量從受試者抽取的多個樣品（例如，2、3、4、6、8或更多個樣品）中的CD63水準得出的平均值。在實施例中，血漿對照水準來自在測量所述血漿CD63水準之前約1與約52週之間（例如，4與32週之間，或12與26週之間，諸如約12週、16週、22週、26週或30週），從受試者抽取的樣品。

【0149】 另一態樣提供了一種降低患有溶體儲積症的患者中（例如，所述患者的血液中）的CD63水準的方法，所述方法包括投予有效量的受質減少療法或酶替代療法（例如，如本文所述）的步驟。在實施例中，溶體儲積症是法布瑞氏症、高雪氏症（例如，高雪氏症1型、2型或3型）或MPS（例如，MPS I型、II型或III型）。在實施例中，CD63的降低是血漿CD63水準的降低。

【0150】 應當理解，較前闡述的方法的各種實施例可以應用於上述方法（例如，如關於測試樣品和對照樣品的樣品類型的選擇）。在特定的實施例中，所述特定溶體儲積症選自上文所列的病症。

【0151】 這些方法在下文針對法布瑞氏症、高雪氏症和MPS中進一步說明，

這也是本發明實例的主題。

法布瑞氏症

【0152】 法布瑞氏症 (FD) 是一種溶體儲積症，其特徵在於由 *GLA* 基因編碼的 α -Gal 活性不足。酶缺乏導致醣神經鞘脂質 (最主要是 GL3) 在多種細胞類型和組織 (包括腎臟、心臟、肝臟、脾臟和皮膚) 以及周圍和中樞神經系統中的進行性細胞內積累。FD 患者出現的症狀是高度可變的，並且取決於病症的嚴重性和階段。症狀通常始於兒童期或青春期，並且可能包括：肢端感覺異常 (四肢劇烈疼痛，例如，手臂和腿部灼熱感，隨著運動和炎熱天氣而加劇)，晶狀體和角膜混濁，血管角化瘤，水腫，腹痛，血液循環受損，以及心臟病發作或中風的風險增加，心臟擴大，進行性腎損傷 (例如，導致腎衰竭) 以及出汗、發熱和胃腸道困難減少。腎臟、心臟和腦血管症狀傾向於表徵疾病後期，並且是發病的重要原因。法布瑞氏症是一種 X 連鎖脂質儲積病，男孩有 50% 的機會從他們的母親那裡繼承這種障礙，而女兒有 50% 的機會成為攜帶者。這種疾病的輕度形式在女性中很常見，儘管受影響的女性偶爾可能會出現與患有這種障礙的男性相似的嚴重症狀。歷史上，通過考慮臨床症狀和家族史，然後測定白細胞或血漿中的 α -Gal 活性和/或檢測組織活檢中的 GL3，可以在假定的基礎上進行診斷；然後可以通過分子遺傳學分析來確認診斷 (Breunig 等人, *Kidney International* (2003) 63(84):S181-S185)。最近，lyso-GL3 已經被用作診斷性生物標記物 (Maruyama 等人, *Genet. Med.* (2019) 21(1):44-52；關於其他診斷法，還參見 Levstek 等人, *Genes (Basel)* (2020) 11(9):1091-1109)。針對 FD 的治療包括使用重組 α -Gal (例如，阿加糖酶 β 和阿加糖酶 α) 的 ERT、小分子伴護蛋白療法 (例如，

米加司他)和受質減少療法(例如,文魯司他)。其他治療性干預也在研究中(參見例如,Oder等人, *Cardiovasc Diagn Ther.* (2021) 11(2):683-695;以及Lenders等人, *Drugs* (2021) 81(6):635-645)。

【0153】 如所附實例中所示,與匹配的健康對照受試者相比,來自法布瑞氏症患者的樣品中的CD63水準增加。特別地,現在已經觀察到法布瑞氏症患者的血漿中CD63上調;CD63水準以線性方式降低(用SRT和ERT兩者);CD63對治療的反應(用文魯司他的SRT)與典型法布裡生物標記物GL3和lyso-GL3在變異性方面是可比較的。因此,將CD63鑒定為FD的生物標記物代表了此疾病的診斷和監測的重要進展。

【0154】 因此,在一態樣提供了一種診斷疑似有風險患上法布瑞氏症的受試者的法布瑞氏症的方法,所述方法包括測量來自所述受試者的樣品中的CD63水準。相關態樣提供了CD63作為生物標記物在診斷疑似有風險患上法布瑞氏症的受試者的法布瑞氏症中的用途。以另一種方式來看,這些態樣提供了一種用於生成受試者的定量資料的方法,所述方法包括確定來自受試者的樣品中的CD63水準,其中所述受試者疑似患有(或患有)法布瑞氏症。

【0155】 在實施例中,通過鑒定特定的風險因素,諸如疾病的家族史、基因檢測、其他特徵生物標記物的分析、臨床症狀等以及本文所述的那些,可以認為受試者有風險患上法布瑞氏症。在實施例中,所述特定風險因素選自臨床症狀、家族史、基因檢測、酶活性和醣神經鞘脂質水準中的一或多種。臨床症狀可以包括以下中的一或多種:疲勞、疼痛(例如,肢端感覺異常或腹痛)、晶狀體或角膜混濁、渦狀角膜病變、血管角化瘤、呼吸短促、心悸、水腫、腎臟疾病(例如,蛋白尿、顯微鏡血尿或脂肪尿、或終末期腎臟疾病)、心肌功

能障礙（例如，同心性或不對稱左心室肥大、或心力衰竭）、傳導異常伴PR間期縮短、心律不整、眩暈、頭痛、複視、構音障礙、單側共濟不能、暫時性腦缺血、早發性中風和癡呆。家族史可能包括祖先和/或近親（例如，阿姨、叔叔、表親等；參見例如，Laney等人, *J Genet Couns.* (2008) 17(1):79-83）之間的法布瑞氏症史。基因檢測可能涉及對*GLA*基因的部分或全部進行測序，並且將其與已知的致病變體進行比較（參見例如，「Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS」, *Oxford PharmaGenesis* (2006), 編輯Mehta, Beck和Sunder-Plassmann; 第33章）。例如，在導致酶轉譯過早終止的一些突變的情況下，患者的突變狀態可以允許以高信賴度進行法布瑞氏症的診斷。然而，在其他情況下，可能無法將變體*GLA*與法布瑞氏症絕對相關。酶活性可以通過測試例如全血或血斑樣品中的 α -Gal的活性來評估（參見例如，<https://www.discoverfabry.com/hcp/diagnosing-fabry>；以及Nakao等人, *Kidney Int.* (2003) 64(3):801-807）。醣神經鞘脂質水準可以通過測量樣品（例如，全血或血漿樣品）中的GL3和/或lyso-GL3濃度來評估（參見例如，Maruyama等人, 2019, 同上）。

【0156】 在實施例中，對照值是基線CD63水準，所述基線CD63水準是先前在同一受試者中（即，在來自受試者的較早樣品中）測量的，例如在從受試者獲得測試樣品之前至少1個月（例如，在從受試者獲得測試樣品之前至少2個月、3個月、6個月、9個月、12個月、18個月或24個月）測量的。對照值可以表示在來自受試者的單一較早樣品中測量的CD63水準，或者它可以是來自多個較早樣品的值的平均值。在替代性實施例中，對照值是從一或多個健康受試者取得的樣品中的CD63水準（例如，健康受試者群組的平均值）。在實施例中，例

如通過年齡和/或性別將健康受試者與評估的受試者進行匹配。通常按性別將健康受試者與評估的受試者相匹配。典型地，對照值表示在本發明方法中評估的同一類型樣品（例如，已經以與測試樣品相同的方式獲得、處理和/或儲存的樣品）中的CD63水準。例如，在本發明方法利用血漿樣品的情況下，對照值典型地表示對照血漿樣品（例如，從同一受試者取得的較早血漿樣品或從一或多個健康受試者獲得的血漿樣品）中的CD63水準。

【0157】 在CD63濃度的對照值是點值（或平均值，例如平均的值）的實施例中，如果測試樣品中的CD63水準比對照值大至少約5%，例如至少約7.5%、10%、12.5%、15%、20%、25%、30%、40%、50%、75%或100%，則認為測試樣品中的CD63水準在正常範圍之外。在一些實施例中，如果測試樣品中的CD63水準比對照值大至少約2倍，例如對照值的至少約3、4、5、6、8或10倍，則認為測試樣品中的CD63水準在正常範圍之外。在實施例中，測試樣品中的CD63水準是對照值的約3至約8倍，例如對照值的約4至約7倍、或對照值的約5至約6倍。在實施例中，測試樣品中的CD63水準是對照值的約5倍或對照值的約6倍。在CD63濃度的對照值是數值範圍（例如，通過圍繞平均值的一些變異性來描述）的實施例中，如果測試樣品中的CD63水準比平均值大超過約1個標準誤差，例如大於平均值超過約1.0個、1.1個、1.2個、1.3個、1.4個、1.5個、1.6個、1.7個、1.8個、1.9個、2.0個、2.5個或3.0個標準誤差，則認為測試樣品中的CD63水準在正常範圍之外。

【0158】 在實施例中，CD63用作本公開文本的方法中的唯一生物標記物。

【0159】 可替代地，將來自受試者的樣品中的CD63水準的測量與疾病的一或多種其他特徵性量度（例如，作為用於診斷目的的生物標記物組的一部分）

一起使用。此態樣提供了一種改善受試者的法布瑞氏症的診斷的方法，所述方法的特徵在於將CD63用作生物標記物。相關態樣提供了CD63作為生物標記物以改善診斷受試者的法布瑞氏症的方法的用途。在實施例中，CD63與GL3、lyso-GL3和/或 α -Gal活性，視情況地與一或多種其他生物標記物一起用作生物標記物。在實施例中，CD63與lyso-GL3，視情況地與一或多種其他生物標記物一起用作生物標記物。在實施例中，所使用的其他生物標記物（即，除CD63之外）不包括以下任一種： α -艾杜糖醛酸酶、 α -葡糖苷酶、皂角素C (saposin C)、LAMP-1、LAMP-2、 β -葡糖苷酶、 α -半乳糖苷酶A、艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶、N-乙醯半乳糖胺4-硫酸酯酶、半乳糖6-硫酸酯酶、酸性鞘磷脂酶、半乳糖腦苷酯酶、芳基硫酸酯酶A、皂角素B、乙醯肝素-N-硫酸酯酶、 α -N-乙醯葡萄糖胺糖苷酶、乙醯輔酶A：葡糖胺N-乙醯基轉移酶、N-乙醯葡萄糖胺6-硫酸酯酶、 β -半乳糖苷酶、 β -葡萄糖醛酸酶、天門冬胺醯胺基葡萄糖苷酶、酸性脂肪酶、 β -胺基己糖苷酶A、 β -胺基己糖苷酶B、GM2-活化因子、酸性神經醯胺酶、 α -L-岩藻糖苷酶、 α -D-甘露糖苷酶、 β -D-甘露糖苷酶、神經胺糖酸酶、磷酸轉移酶、磷酸轉移酶g-亞基、棕櫚醯蛋白硫酸酯酶、三肽基肽酶I、組織蛋白酶K (cathepsin K)、 α -半乳糖苷酶B、唾液酸轉運體、CD45白細胞共同生物分子或LIMP II。

【0160】 在實施例中，與不測量CD63水準的相應診斷相比，使用CD63作為生物標記物減少了假陽性的比例和/或增加了真陽性的比例。

【0161】 另一態樣提供了一種治療通過如本文所定義的方法已經被診斷為患有法布瑞氏症的受試者的方法，所述治療包括向所述受試者投予針對法布瑞氏症的一或多種治療性治療。相關態樣提供了一種用於治療受試者的法布瑞氏症的治療劑，其中所述受試者已經通過如本文所定義的方法被診斷為患有法

布瑞氏症。還提供了一種用於生成受試者的定量資料的方法，其中所述方法包括（例如，由以下組成）：(a) 確定來自所述受試者的樣品中的CD63水準；(b) 確定CD63的水準是否大於對照值（例如，被測量為從一或多個健康受試者取得的樣品中的CD63水準的對照值）；以及 (c) 如果所述樣品中的CD63水準大於所述對照值，則對所述受試者施用針對法布瑞氏症的一或多種治療性治療。

【0162】 在實施例中，治療性治療或藥劑包括（例如，由以下組成）受質減少療法（例如，文魯司他）、伴護蛋白療法（例如，米加司他）、酶替代療法（例如，阿加糖酶 α 或阿加糖酶 β ）、和/或基因療法（例如，使用GLA基因或其活性片段）。在實施例中，治療性治療包括（例如，由以下組成）向受試者投予文魯司他或米加司他（例如，文魯司他）。在其他實施例中，治療包括向受試者投予重組 α -半乳糖苷酶（例如，阿加糖酶 β ）。

【0163】 另一態樣提供了一種用於監測被診斷為患有法布瑞氏症的受試者的法布瑞氏症的進展的方法，所述方法包括：(a) 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；(b) 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中第二樣品是在從所述受試者取得第一樣品之後從所述受試者取得的；以及(c) 比較所述第一樣品中的CD63水準與所述第二樣品中的CD63水準。典型地，所述方法進一步包括步驟 (d) 如果第二樣品中的CD63水準大於第一樣品中的CD63水準，則確定所述疾病變得更加嚴重；如果第二樣品中的CD63水準與第一樣品中的CD63水準基本上相同，則確定所述受試者的疾病變沒有進展；以及如果第二樣品中的CD63水準低於第一樣品中的CD63水準，則確定所述疾病變得不那麼嚴重。相關態樣提供了CD63作為生物標記物用於監測被診斷為患有法布瑞氏症的受試者的法布瑞氏症的進展的用途。以另一種方式來看，這些態樣提供了一種用於

生成被診斷為患有法布瑞氏症的受試者的定量資料的方法，所述方法包括以下步驟：(a) 確定來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；(b) 確定來自所述受試者的後續樣品中的CD63水準；以及(c) 將步驟 (a) 中確定的CD63水準與步驟 (b) 中確定的水準進行比較。所述方法可以包括另外的步驟 (d)，其中基於在步驟 (c) 中進行的比較來評估疾病的進展。

【0164】 所述樣品可以是本文提及的類型。在實施例中，所述樣品含有溶體和/或外泌體。在實施例中，所述樣品選自血液、血液級分、尿液、腦脊液、痰、淋巴、真皮組織、腎臟組織、心臟組織、脾臟組織、骨髓等。最便利地，來自受試者的樣品包括（例如，由以下組成）血液（例如，全血）、血液級分和/或尿液。在實施例中，來自受試者的樣品包括（例如，由以下組成）選自血漿和血清的血液級分。在實施例中，所述樣品是血液樣品，例如血漿樣品。在實施例中，所述樣品包括（例如，由以下組成）CSF。

【0165】 在實施例中，以至少約1天，例如至少約2、3或4天，或至少約1、2或4週的間隔從受試者取得第一和第二（或隨後）樣品。在其他實施例中，以至少約8週，例如至少約9、10、12、15或20週的間隔從受試者取得第一和第二（或隨後）樣品。

【0166】 在實施例中，所述方法包括對例如以上述指定的間隔從受試者取得的一或多個另外的樣品進行持續測量。

【0167】 另一態樣提供了一種用於監測被診斷為患有法布瑞氏症的受試者的針對法布瑞氏症的治療進展的方法，所述方法包括：(a) 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；(b) 向所述受試者投予針對法布瑞氏症的治療性治療；以及(c) 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中所述第二樣品

是在投予所述治療性治療之後從所述受試者取得的。典型地，所述方法進一步包括步驟 (d)：如果所述第二樣品中的CD63水準低於所述第一樣品中的CD63水準，則確定所述治療成功。在實施例中，如果步驟 (c) 中確定的CD63水準與步驟 (a) 中確定的CD63水準基本上相同或大於步驟 (a) 中確定的CD63水準，則將增加所述治療性治療的劑量（例如，投予的量和/或頻率）。相關態樣提供了CD63作為生物標記物用於監測被診斷為患有法布瑞氏症的受試者的法布瑞氏症的治療進展的用途。以另一種方式來看，這些態樣提供了一種用於生成患有法布瑞氏症的受試者的定量資料的方法，所述方法包括以下步驟：(a) 確定來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；以及(b) 在向所述受試者投予針對法布瑞氏症的治療性治療後，確定來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準。在實施例中，如果步驟 (b) 中確定的CD63水準與步驟 (a) 中確定的CD63水準基本上相同或大於步驟 (a) 中確定的CD63水準，則將增加所述治療性治療的劑量。

【0168】 在實施例中，針對法布瑞氏症的治療是如本文所述的。因此，所述治療可以包括（例如，由以下組成）受質減少療法、伴護蛋白療法、酶替代療法或基因療法。在實施例中，所述治療包括向受試者投予文魯司他或米加司他（例如，文魯司他）。在其他實施例中，治療包括向受試者投予重組 α -半乳糖苷酶（例如，阿加糖酶 β ）。

【0169】 第二樣品典型地是在從治療性治療的投予起經過一段時間後取得的。在實施例中，第二樣品是在投予治療性治療後（例如，在開始之後）至少約1週（例如，投予治療性治療後至少約2、3、4、6、8、10、12、15或20週）從受試者取得的。在一個實施例中，在開始治療性治療後至少約8週，從受試者取得第二樣品。

【0170】 在實施例中，所述方法包括對例如以約每約1週，諸如約每2、4、6、8、10或12週的間隔從受試者取得的一或多個其他樣品進行持續測量。在基於受試者中CD63水準的變化調整療法的劑量的情況下，這種正在進行的測量可能特別有價值。

【0171】 另一態樣提供了一種治療有需要的患者的法布瑞氏症的方法，其中所述患者具有高於受試者的健康群體的平均值的高於正常的血漿CD63水準（例如，至少約0.25個標準差，諸如至少約0.5、0.75、1、或1.5個標準差的水準），所述方法包括向所述患者投予有效量的針對法布瑞氏症的治療性治療。在實施例中，健康受試者群體是具有相似遺傳背景的群體，例如，與患者具有相同血統和/或地理位置的群體。

【0172】 另一態樣提供了一種治療被診斷為有風險患上法布瑞氏症的受試者的所述疾病的方法，其中所述患者具有高於先前從所述受試者取得的樣品中的對照水準（例如，比血漿對照水準高至少約10%，諸如至少約20%、30%、40%、50%、60%、80%或100%）的血漿CD63水準，所述方法包括向所述受試者投予有效量的針對法布瑞氏症的治療性治療（例如，如上文所述）。在實施例中，血漿對照水準來自在測量所述血漿CD63水準之前約1與約52週之間（例如，4與32週之間，或12與26週之間，諸如約12週、16週、22週、26週或30週），從受試者抽取的樣品。在實施例中，對照值是通過測量從受試者抽取的單一樣品中的CD63水準而得出的。在其他實施例中，對照值是從測量從受試者抽取的多個樣品（例如，2、3、4、6、8或更多個樣品）中的CD63水準得出的平均值。

【0173】 另一態樣提供了一種降低患有法布瑞氏症的患者中（例如，所述患者的血液中）的CD63水準的方法，所述方法包括向所述患者投予有效量的治

療性治療（例如，如本文所述的受質減少療法或酶替代療法）的步驟。在實施例中，CD63的降低是血漿CD63水準的降低。

【0174】 另一態樣提供了一種治療或預防被評估為有風險患上法布瑞氏症的受試者的法布瑞氏症的發展或進展的方法，所述方法包括以下步驟：**(a)** 從所述受試者中取得第一生物樣品（例如，血液或血液級分，諸如血漿），並且分析所述樣品的CD63濃度；**(b)** 如果所述CD63濃度高於對照值，開始對所述受試者進行治療性治療過程（例如，治療有效量的受質減少療法或酶替代療法，諸如本文所述的那些），以及視情況地；**(c)** 在治療所述受試者之後，從所述受試者取得第二生物樣品（例如，與第一生物樣品同一類型）並且分析所述樣品的CD63濃度以確定CD63水準的變化；以及**(d)** 基於觀察到的CD63水準的變化調整所述治療性治療。

【0175】 在實施例中，對照值比先前從同一受試者取得的樣品中的對照水準高約10%（例如，比對照水準高約20%、30%、40%、50%、60%、80%或100%）。在實施例中，對照水準是通過測量從受試者抽取的單一樣品中的CD63水準而得出的。在其他實施例中，對照值是從測量從受試者抽取的多個樣品（例如，2、3、4、6、8或更多個樣品）中的CD63水準得出的平均值。在實施例中，血漿對照水準來自在測量所述血漿CD63水準之前約1與約52週之間（例如，4與32週之間，或12與26週之間，諸如約12週、16週、22週、26週或30週），從受試者抽取的樣品。

【0176】 在實施例中，針對法布瑞氏症的治療是如本文所述的。因此，所述治療可以包括（例如，由以下組成）受質減少療法、伴護蛋白療法、酶替代療法或基因療法。在實施例中，所述治療包括向受試者投予文魯司他或米加司

他（例如，文魯司他）。在其他實施例中，治療包括向受試者投予重組 α -半乳糖苷酶（例如，阿加糖酶 β ）。

【0177】 第二樣品典型地是在從治療性治療的投予起經過一段時間後取得的。在實施例中，第二樣品是在投予治療性治療後（例如，在開始之後）至少約1週（例如，投予治療性治療後至少約2、3、4、6、8、10、12、15或20週）從受試者取得的。在一個實施例中，在開始治療性治療後至少約8週，從受試者取得第二樣品。

【0178】 在實施例中，所述方法包括對例如以約每約1週，諸如約每2、4、6、8、10或12週的間隔從受試者取得的一或多個其他樣品進行持續測量。在基於受試者中CD63水準的變化調整療法的劑量的情況下，這種正在進行的測量可能特別有價值。

【0179】 另一態樣提供了一種用於調整接受針對法布瑞氏症的治療性治療的受試者的所述治療性治療的劑量的方法，所述方法包括：(a) 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；(b) 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中所述第二樣品是在投予一或多個劑量的所述治療性治療之後從所述受試者取得的；以及(c) 基於所述第一樣品中的CD63水準與所述第二樣品中的CD63水準之間的差異來調整所述治療性治療的劑量。典型地，步驟 (c) 中的劑量調整包括：如果第二樣品中的CD63水準低於第一樣品中的CD63水準，則維持所述治療性治療的劑量，並且如果第二樣品中的CD63水準與第一樣品中的CD63水準基本上相同或大於第一樣品中的CD63水準，則增加所述治療性治療的劑量（例如，投予量和/或頻率）。在實施例中，如果第二樣品中的CD63水準低於第一樣品中的CD63水準，則降低所述治療性治療的劑量（例如，投予量和/

或頻率)。相關態樣提供了CD63作為生物標記物用於調整接受針對法布瑞氏症的治療性治療的受試者的所述治療性治療的劑量的用途。

【0180】 在實施例中，所述受試者是男性受試者。在其他實施例中，所述受試者是女性受試者。

高雪氏症

【0181】 高雪氏症 (GD) 是一種由 *GBA* 基因中的突變引起的遺傳性代謝障礙，導致 GC 酶（也稱為酸性 β -葡萄糖苷酶）缺乏以及巨噬細胞的溶體中 GL1 和 lyso-GL1 的相關積累；這會影響網狀內皮系統（包括肝臟、脾臟和骨髓）的細胞，可能導致脾臟和肝臟增大、肝功能不全、骨骼障礙、骨骼病變或重度神經系統併發症。GD 的形式分組為三種主要類型 - 1 型 GD 是一種非神經性形式，是最常見的類型並且主要影響成年人，診斷時的平均年齡為約 28 歲；2 型 GD 是一種急性神經性形式，典型地在生命的前 3-6 個月影響嬰兒；並且 3 型是一種慢性神經性形式，其發病時間比 2 型更晚且更緩慢。高雪氏症 3 型 (GD3) 的特徵在於進行性腦病和全身表現，類似於 1 型。它是由 *GBA* 基因中的突變 (1q21) 引起的，並且其特徵是顯著的中樞神經系統 (CNS) 受累，這對診斷和監測提出了重大挑戰。

【0182】 Lyso-GL1 水準、 β -葡萄糖苷酶活性和基因 *GBA* 測序是目前最常見的 GD 診斷和預後指標。在 lyso-GL1 的情況下，一些研究表明其病理受累與疾病負擔和臨床嚴重性相關。幾丁三糖苷酶和 CCL18 也已經被鑒定為高雪氏症的生物標記物，但是在臨床中並且不常用（參見例如，Rofls 等人, *PLoS ONE* (2013) 8(11):e79732）。

【0183】 如所附的實例中所示，高雪氏症患者中的CD63水準升高，並且與GD的典型生物標記物（諸如lyso-GL1或幾丁三糖苷酶（chitotriosidase））相比，在經治療的患者中顯示出低得多的變異性。因此，CD63代表了在診斷和監測GD中用於所述用途的有價值的生物標記物。

【0184】 因此，在一態樣提供了一種診斷疑似有風險患上高雪氏症的受試者的高雪氏症的方法，所述方法包括測量來自所述受試者的樣品中的CD63水準。相關態樣提供了CD63作為生物標記物在診斷疑似有風險患上高雪氏症的受試者的高雪氏症中的用途。以另一種方式來看，這些態樣提供了一種用於生成受試者的定量資料的方法，所述方法包括確定來自受試者的樣品中的CD63水準，其中所述受試者疑似患有（或患有）高雪氏症。在實施例中，所述高雪氏症是1型GD、2型GD或3型GD。在實施例中，所述高雪氏症是3型GD。

【0185】 在實施例中，通過鑒定特定的風險因素，諸如疾病的家族史、基因檢測、其他特徵生物標記物的分析、臨床症狀等以及本文所述的那些，可以認為受試者有風險患上高雪氏症（例如，1型GD）。在實施例中，所述特定風險因素選自臨床症狀、家族史、基因檢測、酶活性和醣神經鞘脂質水準中的一或多種。臨床症狀可能包括以下中的一或多種：肝腫大和脾腫大、疼痛（尤其是關節（例如，髕部和/或膝蓋）的嚴重疼痛）、骨質疏鬆症、皮膚色素沉著、全部血球減少症（例如，導致貧血、嗜中性粒細胞減少症、白細胞減少症和/或血小板減少症，伴有感染和出血風險增加）和神經症狀（例如，嗅覺和認知受損，尤其是在1型GD中；驚厥、肌張力過高、智力殘疾和呼吸暫停，尤其是在2型GD中；以及肌陣攣、抽搐、癡呆和眼部肌肉失用症，尤其是在3型GD中）以及帕金森氏症。家族史可以包括祖先和/或近親（例如，阿姨、叔叔、表親等）

之間的高雪氏症史。基因檢測可以涉及對*GBA*基因的一些或全部進行測序，並且將其與已知致病變體進行比較(參見例如，Riboldi等人, *Cells* (2019) 8:364-380)。例如，在已知與嚴重疾病相關的突變的情況下，患者的突變狀態可以允許以高信賴度進行高雪氏症的診斷。然而，在其他情況下，可能無法將變體*GBA*與高雪氏症絕對相關。酶活性可以通過測試例如在全血或血斑樣品中的GC酶的活性來評估(參見例如，Miyamoto等人, *Intern Med.* (2021) 60:699-707)。醣神經鞘脂質水準可以通過測量樣品(例如，全血或血漿樣品)中的GL1和/或lyso-GL1濃度來評估(參見例如，Rofls等人, 2013, 同上)。

【0186】 在實施例中，對照值是基線CD63水準，所述基線CD63水準是先前在同一受試者中(即，在來自受試者的較早樣品中)測量的，例如在從受試者獲得測試樣品之前至少1個月(例如，在從受試者獲得測試樣品之前至少2個月、3個月、6個月、9個月、12個月、18個月或24個月)測量的。對照值可以表示在來自受試者的單一較早樣品中測量的CD63水準，或者它可以是來自多個較早樣品的值的平均值。在替代性實施例中，對照值是從一或多個健康受試者取得的樣品中的CD63水準(例如，健康受試者群組的平均值)。在實施例中，例如通過年齡和/或性別將健康受試者與評估的受試者進行匹配。典型地，對照值表示在本發明方法中評估的同一類型樣品(例如，已經以與測試樣品相同的方式獲得、處理和/或儲存的樣品)中的CD63水準。例如，在本發明方法利用血漿樣品的情況下，對照值典型地表示對照血漿樣品(例如，從同一受試者取得的較早血漿樣品或從一或多個健康受試者獲得的血漿樣品)中的CD63水準。

【0187】 在CD63濃度的對照值是點值(或平均值，例如平均的值)的實施例中，如果測試樣品中的CD63水準比對照值大至少約5%，例如至少約7.5%、10%、

12.5%、15%、20%、25%、30%、40%、50%、75%或100%，則認為測試樣品中的CD63水準在正常範圍之外。在一些實施例中，如果測試樣品中的CD63水準比對照值大至少約2倍，例如對照值的至少約3、4、5、6、8或10倍，則認為測試樣品中的CD63水準在正常範圍之外。在實施例中，測試樣品中的CD63水準是對照值的約3至約8倍，例如對照值的約4至約6倍、或對照值的約4至約5倍。在實施例中，測試樣品中的CD63水準是對照值的約4倍或對照值的約5倍。在CD63濃度的對照值是數值範圍（例如，通過圍繞平均值的一些變異性來描述）的實施例中，如果測試樣品中的CD63水準比平均值大超過約1個標準誤差，例如大於平均值超過約1.0個、1.1個、1.2個、1.3個、1.4個、1.5個、1.6個、1.7個、1.8個、1.9個、2.0個、2.5個或3.0個標準誤差，則認為測試樣品中的CD63水準在正常範圍之外。

【0188】 在實施例中，CD63用作本公開文本的方法中的唯一生物標記物。

【0189】 可替代地，將來自受試者的樣品中的CD63水準的測量與疾病的一或多種其他特徵性量度（例如，作為用於診斷目的的生物標記物組的一部分）一起使用。此態樣提供了一種改善受試者的高雪氏症的診斷的方法，所述方法的特徵在於將CD63用作生物標記物。相關態樣提供了CD63作為生物標記物以改善診斷受試者的高雪氏症的方法的用途。在實施例中，所述高雪氏症是1型GD、2型GD或3型GD。在實施例中，CD63與GL1、lyso-GL1、CCL18和/或幾丁三糖苷酶，視情況地與一或多種其他生物標記物一起用作生物標記物。在實施例中，所使用的其他生物標記物（即，除CD63之外）不包括以下任一種： α -艾杜糖醛酸酶、 α -葡萄糖苷酶、皂角素C（saposin C）、LAMP-1、LAMP-2、 β -葡萄糖苷酶、 α -半乳糖苷酶A、艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶、N-乙酰半乳糖胺4-硫酸酯酶、半

乳糖6-硫酸酯酶、酸性鞘磷脂酶、半乳糖腦苷酯酶、芳基硫酸酯酶A、皂角素B、乙醯肝素-N-硫酸酯酶、 α -N-乙醯葡萄糖胺糖苷酶、乙醯輔酶A：葡萄糖胺N-乙醯基轉移酶、N-乙醯葡萄糖胺6-硫酸酯酶、 β -半乳糖苷酶、 β -葡萄糖醛酸酶、天門冬胺醯胺基葡萄糖苷酶、酸性脂肪酶、 β -胺基己糖苷酶A、 β -胺基己糖苷酶B、GM2-活化因子、酸性神經醯胺酶、 α -L-岩藻糖苷酶、 α -D-甘露糖苷酶、 β -D-甘露糖苷酶、神經胺糖酸酶、磷酸轉移酶、磷酸轉移酶g-亞基、棕櫚醯蛋白硫酸酯酶、三肽基肽酶I、組織蛋白酶K (cathepsin K)、 α -半乳糖苷酶B、唾液酸轉運體、CD45白細胞共同生物分子或LIMP II。

【0190】 在實施例中，與不測量CD63水準的相應診斷相比，使用CD63作為生物標記物減少了假陽性的比例和/或增加了真陽性的比例。

【0191】 另一態樣提供了一種治療通過如本文所定義的方法已經被診斷為患有高雪氏症的受試者的方法，所述治療包括向所述受試者投予針對高雪氏症的一或多種治療性治療。相關態樣提供了一種用於治療受試者的高雪氏症的治療劑，其中所述受試者已經通過如本文所定義的方法被診斷為患有高雪氏症。還提供了一種用於生成受試者的定量資料的方法，其中所述方法包括（例如，由以下組成）：**(a)** 確定來自所述受試者的樣品中的CD63水準；**(b)** 確定CD63的水準是否大於對照值（例如，被測量為從一或多個健康受試者取得的樣品中的CD63水準的對照值）；以及 **(c)** 如果所述樣品中的CD63水準大於所述對照值，則對所述受試者施用針對高雪氏症的一或多種治療性治療。在實施例中，所述高雪氏症是1型GD、2型GD或3型GD。

【0192】 在實施例中，所述治療性治療或藥劑包括（例如，由以下組成）受質減少療法（例如，依魯司他、文魯司他或米格魯他）、伴護蛋白療法、酶

替代療法(例如,伊米昔酶、維拉昔酶(*velaglucerase*)或他利昔酶(*taliglucerase*))和/或基因療法(例如,使用*GBA*基因)。在實施例中,所述治療性治療包括(例如,由以下組成)向受試者投予依魯司他。在實施例中,所述治療性治療包括(例如,由以下組成)向受試者投予文魯司他。在其他實施例中,所述治療包括向受試者投予重組葡萄糖腦苷脂酶(例如,伊米昔酶)。在實施例中,所述治療性治療包括(例如,由以下組成)向受試者投予文魯司他和重組葡萄糖腦苷脂酶(例如,伊米昔酶)。在實施例中,所述高雪氏症是1型GD,並且所述治療性治療包括(例如,由以下組成)向受試者投予依魯司他。在實施例中,所述高雪氏症是2型或3型GD,並且所述治療性治療包括(例如,由以下組成)向受試者投予文魯司他。在實施例中,所述高雪氏症是3型GD,並且所述治療性治療包括(例如,由以下組成)向受試者投予文魯司他和重組葡萄糖腦苷脂酶(例如,伊米昔酶)。在實施例中,所述高雪氏症是3型GD,並且所述治療性治療包括(例如,由以下組成)向受試者投予文魯司他。

【0193】 另一態樣提供了一種用於監測被診斷為患有高雪氏症的受試者的高雪氏症的進展的方法,所述方法包括:(a) 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準;(b) 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準,其中第二樣品是在從所述受試者取得第一樣品之後從所述受試者取得的;以及(c) 比較所述第一樣品中的CD63水準與所述第二樣品中的CD63水準。典型地,所述方法進一步包括步驟(d) 如果第二樣品中的CD63水準大於第一樣品中的CD63水準,則確定所述疾病變得更加嚴重;如果第二樣品中的CD63水準與第一樣品中的CD63水準基本上相同,則確定所述受試者的疾病變沒有進展;以及如果第二樣品中的CD63水準低於第一樣品中的CD63水準,則確定所述疾病變得不那麼嚴重。相

關態樣提供了CD63作為生物標記物用於監測被診斷為患有高雪氏症的受試者的高雪氏症的進展的用途。以另一種方式來看，這些態樣提供了一種用於生成被診斷為患有高雪氏症的受試者的定量資料的方法，所述方法包括以下步驟：(a) 確定來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；(b) 確定來自所述受試者的後續樣品中的CD63水準；以及(c) 將步驟 (a) 中確定的CD63水準與步驟 (b) 中確定的水準進行比較。所述方法可以包括另外的步驟 (d)，其中基於在步驟 (c) 中進行的比較來評估疾病的進展。在實施例中，所述高雪氏症是1型GD、2型GD或3型GD。

【0194】 所述樣品可以是本文提及的類型。在實施例中，所述樣品含有溶體和/或外泌體。在實施例中，所述樣品選自血液、血液級分、尿液、腦脊液、痰、淋巴、真皮組織、腎臟組織、心臟組織、脾臟組織、骨髓等。便利地，來自受試者的樣品包括（例如，由以下組成）血液（例如，全血）、血液級分和/或尿液。在實施例中，來自受試者的樣品包括（例如，由以下組成）選自血漿和血清的血液級分。在實施例中，所述樣品是血液樣品，例如血漿樣品。在實施例中，所述樣品是CSF樣品。在實施例中，所述樣品不包括血小板。

【0195】 在實施例中，以至少約1天，例如至少約2、3或4天，或至少約1、2或4週的間隔從受試者取得第一和第二（或隨後）樣品。在其他實施例中，以至少約8週，例如至少約9、10、12、15或20週的間隔從受試者取得第一和第二（或隨後）樣品。

【0196】 在實施例中，所述方法包括對例如以上述指定的間隔從受試者取得的一或多個另外的樣品進行持續測量。

【0197】 另一態樣提供了一種用於監測被診斷為患有高雪氏症的受試者的針對高雪氏症的治療進展的方法，所述方法包括：(a) 測量來自所述受試者的

第一樣品中的CD63水準；(b) 向所述受試者投予針對高雪氏症的治療性治療；以及(c) 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中所述第二樣品是在投予所述治療性治療之後從所述受試者取得的。典型地，所述方法進一步包括步驟 (d)：如果所述第二樣品中的CD63水準低於所述第一樣品中的CD63水準，則確定所述治療成功。在實施例中，如果步驟 (c) 中確定的CD63水準與步驟 (a) 中確定的CD63水準基本上相同或大於步驟 (a) 中確定的CD63水準，則將增加所述治療性治療的劑量（例如，投予的量和/或頻率）。相關態樣提供了CD63作為生物標記物用於監測被診斷為患有高雪氏症的受試者的高雪氏症的治療進展的用途。以另一種方式來看，這些態樣提供了一種用於生成患有高雪氏症的受試者的定量資料的方法，所述方法包括以下步驟：(a) 確定來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；以及(b) 在向所述受試者投予針對高雪氏症的治療性治療後，確定來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準。在實施例中，如果步驟 (b) 中確定的CD63水準與步驟 (a) 中確定的CD63水準基本上相同或大於步驟 (a) 中確定的CD63水準，則將增加所述治療性治療的劑量。在實施例中，所述高雪氏症是1型GD、2型GD或3型GD。在實施例中，所述高雪氏症是3型GD，並且所述樣品包括（例如，由以下組成）CSF。

【0198】 在實施例中，針對高雪氏症的治療是如本文所述的。因此，所述治療可以包括（例如，由以下組成）受質減少療法、酶替代療法和/或基因療法。在實施例中，所述治療包括向受試者投予依魯司他或米格魯他（例如，依魯司他）。在其他實施例中，所述治療包括向受試者投予重組葡萄糖腦苷脂酶（例如，伊米昔酶）。在實施例中，所述方法監測從第一治療（諸如ERT，例如用伊米昔酶）到第二治療（諸如SRT，例如用依魯司他）的變化，例如以檢查患者在

變化後改善或保持穩定。

【0199】 第二樣品典型地是在從治療性治療的投予起經過一段時間後取得的。在實施例中，第二樣品是在投予治療性治療後（例如，在開始之後）至少約1週（例如，投予治療性治療後至少約2、3、4、6、8、10、12、15或20週）從受試者取得的。在一個實施例中，在開始治療性治療後至少8週，從受試者取得第二樣品。

【0200】 在實施例中，所述方法包括對例如以約每1週，諸如約每2、4、6、8、10或12週的間隔從受試者取得的一或多個其他樣品進行持續測量。在基於受試者中CD63水準的變化調整療法的劑量的情況下，這種正在進行的測量可能特別有價值。

【0201】 另一態樣提供了一種治療有需要的患者的高雪氏症的方法，其中所述患者具有高於受試者的健康群體的平均值的高於正常的血漿CD63水準（例如，至少約0.25個標準差，諸如至少約0.5、0.75、1、或1.5個標準差的水準），所述方法包括向所述患者投予有效量的針對高雪氏症的治療性治療。在實施例中，健康受試者群體是具有相似遺傳背景的群體，例如，與患者具有相同血統和/或地理位置的群體。

【0202】 另一態樣提供了一種治療被診斷為有風險患上高雪氏症的受試者的所述疾病的方法，其中所述患者具有高於先前從所述受試者取得的樣品中的對照水準（例如，比血漿對照水準高至少約10%，諸如至少約20%、30%、40%、50%、60%、80%或100%）的血漿CD63水準，所述方法包括向所述受試者投予有效量的針對高雪氏症的治療性治療（例如，如上文所述）。在實施例中，血漿對照水準來自在測量所述血漿CD63水準之前約1與約52週之間（例如，4與32

週之間，或12與26週之間，諸如約12週、16週、22週、26週或30週），從受試者抽取的樣品。在實施例中，對照值是通過測量從受試者抽取的單一樣品中的CD63水準而得出的。在其他實施例中，對照值是從測量從受試者抽取的多個樣品（例如，2、3、4、6、8或更多個樣品）中的CD63水準得出的平均值。

【0203】 另一態樣提供了一種降低患有高雪氏症的患者中（例如，所述患者的血液中）的CD63水準的方法，所述方法包括向所述患者投予有效量的治療性治療（例如，如本文所述的受質減少療法或酶替代療法）的步驟。在實施例中，CD63的降低是血漿CD63水準的降低。

【0204】 另一態樣提供了一種治療或預防被評估為有風險患上高雪氏症的受試者的高雪氏症的發展或進展的方法，所述方法包括以下步驟：**(a)** 從所述受試者中取得第一生物樣品（例如，血液或血液級分，諸如血漿），並且分析所述樣品的CD63濃度；**(b)** 如果所述CD63濃度高於對照值，開始對所述受試者進行治療性治療過程（例如，治療有效量的受質減少療法和/或酶替代療法，諸如本文所述的那些），以及視情況地；**(c)** 在治療所述受試者之後，從所述受試者取得第二生物樣品（例如，與第一生物樣品同一類型）並且分析所述樣品的CD63濃度以確定CD63水準的變化；以及**(d)** 基於觀察到的CD63水準的變化調整所述治療性治療。

【0205】 在實施例中，對照值比先前從同一受試者取得的樣品中的對照水準高約10%（例如，比對照水準高約20%、30%、40%、50%、60%、80%或100%）。在實施例中，對照水準是通過測量從受試者抽取的單一樣品中的CD63水準而得出的。在其他實施例中，對照值是從測量從受試者抽取的多個樣品（例如，2、3、4、6、8或更多個樣品）中的CD63水準得出的平均值。在實施例中，血漿對

照水準來自在測量所述血漿CD63水準之前約1與約52週之間（例如，4與32週之間，或12與26週之間，諸如約12週、16週、22週、26週或30週），從受試者抽取的樣品。

【0206】 在實施例中，針對高雪氏症的治療是如本文所述的。因此，所述治療可以包括（例如，由以下組成）受質減少療法、伴護蛋白療法、酶替代療法和/或基因療法。在實施例中，所述治療包括向受試者投予文魯司他、依魯司他或米格魯他（例如，文魯司他或依魯司他）。在其他實施例中，所述治療包括向受試者投予重組葡萄糖腦苷脂酶（例如，伊米昔酶）。在實施例中，所述治療性治療包括（例如，由以下組成）向受試者投予文魯司他和重組葡萄糖腦苷脂酶（例如，伊米昔酶）。在實施例中，所述高雪氏症是1型GD，並且所述治療性治療包括（例如，由以下組成）向受試者投予依魯司他。在實施例中，所述高雪氏症是2型或3型GD，並且所述治療性治療包括（例如，由以下組成）向受試者投予文魯司他。在實施例中，所述高雪氏症是3型GD，並且所述治療性治療包括（例如，由以下組成）向受試者投予文魯司他和重組葡萄糖腦苷脂酶（例如，伊米昔酶）。在實施例中，所述高雪氏症是3型GD，並且所述治療性治療包括（例如，由以下組成）向受試者投予文魯司他。

【0207】 第二樣品典型地是在從治療性治療的投予起經過一段時間後取得的。在實施例中，第二樣品是在投予治療性治療後（例如，在開始之後）至少約1週（例如，投予治療性治療後至少約2、3、4、6、8、10、12、15或20週）從受試者取得的。在一個實施例中，在開始治療性治療後至少約8週，從受試者取得第二樣品。

【0208】 在實施例中，所述方法包括對例如以約每約1週，諸如約每2、4、

6、8、10或12週的間隔從受試者取得的一或多個其他樣品進行持續測量。在基於受試者中CD63水準的變化調整療法的劑量的情況下，這種正在進行的測量可能特別有價值。

【0209】 另一態樣提供了一種用於調整接受針對高雪氏症的治療性治療的受試者的所述治療性治療的劑量的方法，所述方法包括：**(a)** 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；**(b)** 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中所述第二樣品是在投予一或多個劑量的所述治療性治療之後從所述受試者取得的；以及**(c)** 基於所述第一樣品中的CD63水準與所述第二樣品中的CD63水準之間的差異來調整所述治療性治療的劑量。典型地，步驟 **(c)** 中的劑量調整包括：如果第二樣品中的CD63水準低於第一樣品中的CD63水準，則維持所述治療性治療的劑量，並且如果第二樣品中的CD63水準與第一樣品中的CD63水準基本上相同或大於第一樣品中的CD63水準，則增加所述治療性治療的劑量（例如，投予量和/或頻率）。在實施例中，如果第二樣品中的CD63水準低於第一樣品中的CD63水準，則降低所述治療性治療的劑量（例如，投予量和/或頻率）。相關態樣提供了CD63作為生物標記物用於調整接受針對高雪氏症的治療性治療的受試者的所述治療性治療的劑量的用途。

粘多糖病

【0210】 粘多糖病是一種遺傳性障礙，其中由於降解GAG的溶體酶的缺乏而導致GAG在整個身體的結締組織和其他組織中積累。症狀因疾病的嚴重性而異，但是典型地是由骨骼、結締組織和器官的損傷（例如，發育異常、關節僵硬、和肝腫大/脾腫大）以及神經或脊髓神經根的壓迫（例如，疼痛、運動功能

受損和周圍神經系統的其他併發症)引起的。目前存在七種鑒定的MPS臨床類型，以及根據受影響的基因分類的多個亞型(參見例如，Celik等人, *Diagnostics* (2021) 11(2):273-311)。當前的治療選擇包括酶替代療法(ERT)和造血幹細胞移植(HSCT)，但早期診斷和治療開始通常是至關重要的，以便對疾病進展產生任何重大影響。MPS的一般特徵指示在下表中(改編自Celik等人, 同上, 其中：HS是硫酸乙醯肝素；DS是硫酸皮膚素；CS是硫酸軟骨素，例如4-硫酸軟骨素或6-硫酸軟骨素；並且KS是硫酸角質素)：

類型	相關基因	缺失酶	GAG積累
MPS I	<i>IDUA</i>	α -L-艾杜糖醛酸酶	HS和DS(I-H型, 重度)； 僅DS(I-S和I-H/S型)
MPS II	<i>IDS</i>	艾杜糖醛酸酶-2-硫酸酯酶	HS和DS
MPS IIIA	<i>SGSH</i>	乙醯肝素-N-硫酸酯酶	HS
MPS IIIB	<i>NAGLU</i>	α -N-乙醯胺基葡萄糖苷酶	HS
MPS IIIC	<i>HGSNAT</i>	α -胺基葡萄糖苷酶乙醯基轉移酶	HS
MPS IIID	<i>GNS</i>	N-乙醯胺基葡萄糖-6-硫酸酯酶	HS
MPS IVA	<i>GALNS</i>	N-乙醯胺基葡萄糖-6-硫酸酯硫酸酯酶	C6S, KS
MPS IVB	<i>GLB1</i>	β -半乳糖苷酶	KS
MPS VI	<i>ARSB</i>	N-乙醯胺基葡萄糖-4-硫酸酯酶	DS, C4S
MPS VII	<i>GUSB</i>	β -葡萄糖醛酸酶	HS, DS, C4S, C6S
MPS IX	<i>HYAL1</i>	玻尿酸酶	玻尿酸

【0211】從歷史上看，MPS的臨床診斷是通過測量尿液中的總GAG水準來進行的。然而，由於難以收集和儲存，這種方法對於篩查新生兒尿液是不切實際且代價高昂的。已經開發了一種基於染料染色的尿液GAG水準的斑點測試，但是這種測試存在可靠性和靈敏度問題，尤其是在出生後的前幾天。這些基於

染料的方法通常不適用於血斑樣品，並且也不能以極大的信賴度區分MPS類型或預測疾病的嚴重性（參見例如，Tomatsu等人, *Mol Genet Metab.* (2013) 110(0):42-53）。已經開發了可以檢測特定GAG（例如像硫酸角質素）的親和力結合方法（ELISA）。此類方法可以用於評估血液樣品中的GAG水準，但是不適用於同時分析多種GAG（參見例如，Khan等人, *Mol Genet Metab.* (2020) 130(2):101-109）。最近，已經開發了質譜方法（例如，LC-MS/MS）來檢測和定量血液樣品中的多種GAG（參見例如，Khaledi等人, *Anal Chem.* (2020) 92(17):11721-11727），但這些方法不適用於血液樣品中所有MPS類型的診斷。

【0212】 因此，仍然需要改進用於MPS診斷的方法，並且需要提供用於監測疾病進展和治療功效的新方法。如所附實例中所示，MPS患者中的CD63水準升高並且可以用作檢測和監測這些受試者中的MPS的量度。

【0213】 因此，在一態樣提供了一種診斷疑似有風險患上MPS的受試者的MPS的方法，所述方法包括測量來自所述受試者的樣品中的CD63水準。相關態樣提供了CD63作為生物標記物在診斷疑似有風險患上MPS的受試者的MPS中的用途。以另一種方式來看，這些態樣提供了一種用於生成受試者的定量資料的方法，所述方法包括確定來自受試者的樣品中的CD63水準，其中所述受試者疑似患有（或患有）MPS。在實施例中，所述MPS選自MPS I、MPS II和MPS III。在實施例中，所述MPS選自MPS I和MPS II。在實施例中，所述MPS是MPS I（例如，I-H、I-S或I-H/S型）。在其他實施例中，所述MPS是MPS II。在其他實施例中，所述MPS是MPS III（例如，IIIA、IIIB、IIIC或IIID型）。在實施例中，所述MPS不是MPS I。在實施例中，所述MPS不是MPS III（例如，MPS IIIA）。在實施例中，所述MPS不是MPS I或MPS III（例如，MPS IIIA）。

【0214】在實施例中，通過鑒定特定的風險因素，諸如疾病的家族史、基因檢測、其他特徵生物標記物的分析、臨床症狀等，可以認為受試者有風險患上MPS。在實施例中，所述特定風險因素選自臨床症狀、家族史、基因檢測、酶活性和GAG水準中的一或多種。臨床症狀可以包括影響頭部和頸部（例如，巨頭畸形、聽力損失、角膜渾濁和異常牙列）、關節和骨骼（例如，僵硬、髖關節發育不良、爪形手和關節鬆弛）、心血管系統（例如，瓣膜增厚和左心室肥大）、呼吸道（例如，復發性呼吸道感染和阻塞性呼吸道疾病）、腹部（例如，肝腫大/脾腫大和臍疝/腹股溝疝）的一或多種症狀，以及神經症狀（例如，發展遲緩、腦室擴大、血管周圍間隙擴大和過度活躍或攻擊行為），和其他症狀（例如，白細胞顆粒異常、胎兒水腫和蛋白尿）。這些體徵和症狀中的許多是不同類型MPS所共有的，並且僅在此基礎上典型地無法以高確定度診斷出呈現孤立症狀的患者。發展遲緩和骨關節表現可能與針對這些病症的早期診斷的篩查計畫最相關（關於MPS鑒別診斷的更多細節，參見例如Kubaski等人, *Diagnostics (Basel)*. (2020) 10(3):172）。家族史可以包括祖先和/或近親（例如，阿姨、叔叔、表親等）之間的MPS病史。基因檢測可以涉及對相關基因的一些或全部進行測序（例如，如上表所示），並且將其與已知的致病變體進行比較（參見例如，Kubaski等人, 2020, 同上）。患者的突變狀態可以允許以高信賴度進行MPS的診斷，然而，但是可能無法將變異基因與MPS絕對相關。酶活性可以通過測試例如全血或血斑樣品中的缺失酶的活性來評估（參見例如，Filocamo等人, *Italian Journal of Pediatrics* (2018) 44(S2):129；和Lehman等人, *Rheumatology* (2011) 50(S5):v41-48）。GAG水準可以通過測量樣品（例如，全血、血漿、血清或尿液樣品）中的聚糖濃度來評估（參見例如，Khan等人, 2020, 同上）。

【0215】 在實施例中，對照值是基線CD63水準，所述基線CD63水準是先前在同一受試者中（即，在來自受試者的較早樣品中）測量的，例如在從受試者獲得測試樣品之前至少1個月（例如，在從受試者獲得測試樣品之前至少2個月、3個月、6個月、9個月、12個月、18個月或24個月）測量的。對照值可以表示在來自受試者的單一較早樣品中測量的CD63水準，或者它可以是來自多個較早樣品的值的平均值。在替代性實施例中，對照值是從一或多個健康受試者取得的樣品中的CD63水準（例如，健康受試者群組的平均值）。在實施例中，例如通過年齡和/或性別將健康受試者與評估的受試者進行匹配。典型地，對照值表示在本發明方法中評估的同一類型樣品（例如，已經以與測試樣品相同的方式獲得、處理和/或儲存的樣品）中的CD63水準。例如，在本發明方法利用血漿樣品的情況下，對照值典型地表示對照血漿樣品（例如，從同一受試者取得的較早血漿樣品或從一或多個健康受試者獲得的血漿樣品）中的CD63水準。

【0216】 在CD63濃度的對照值是點值（或平均值，例如平均的值）的實施例中，如果測試樣品中的CD63水準比對照值大至少約5%，例如至少約7.5%、10%、12.5%、15%、20%、25%、30%、40%、50%、75%或100%，則認為測試樣品中的CD63水準在正常範圍之外。在一些實施例中，如果測試樣品中的CD63水準比對照值大至少約2倍，例如對照值的至少約3、4、5、6、8或10倍，則認為測試樣品中的CD63水準在正常範圍之外。在實施例中，測試樣品中的CD63水準是對照值的約3至約8倍，例如對照值的約3至約6倍、或對照值的約4至約5倍。在實施例中，測試樣品中的CD63水準是對照值的約4倍或對照值的約5倍。在CD63濃度的對照值是數值範圍（例如，通過圍繞平均值的一些變異性來描述）的實施例中，如果測試樣品中的CD63水準比平均值大超過約1個標準誤差，例如大於

平均值超過約1.0個、1.1個、1.2個、1.3個、1.4個、1.5個、1.6個、1.7個、1.8個、1.9個、2.0個、2.5個或3.0個標準誤差，則認為測試樣品中的CD63水準在正常範圍之外。

【0217】 在實施例中，CD63用作本公開文本的方法中的唯一生物標記物。

【0218】 可替代地，將來自受試者的樣品中的CD63水準的測量與疾病的一或多種其他特徵性量度（例如，作為用於診斷目的的生物標記物組的一部分）一起使用。此態樣提供了一種改善受試者的MPS的診斷的方法，所述方法的特徵在於將CD63用作生物標記物。相關態樣提供了CD63作為生物標記物以改善診斷受試者的MPS的方法的用途。在實施例中，所述MPS選自MPS I、MPS II和MPS III。在實施例中，所述MPS是MPS I（例如，I-H、I-S或I-H/S型）。在其他實施例中，所述MPS是MPS II。在其他實施例中，所述MPS是MPS III（例如，IIIA、IIIB、IIIC或IIID型）。在實施例中，所述MPS不是MPS I。在實施例中，所述MPS不是MPS III（例如，MPS IIIA）。在實施例中，所述MPS不是MPS I或MPS III（例如，MPS IIIA）。在實施例中，所使用的其他生物標記物（即，除CD63之外）不包括以下任一種： α -艾杜糖醛酸酶、 α -葡萄糖苷酶、皂角素C（saposin C）、LAMP-1、LAMP-2、 β -葡萄糖苷酶、 α -半乳糖苷酶A、艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶、N-乙醯半乳糖胺4-硫酸酯酶、半乳糖6-硫酸酯酶、酸性鞘磷脂酶、半乳糖腦苷酯酶、芳基硫酸酯酶A、皂角素B、乙醯肝素-N-硫酸酯酶、 α -N-乙醯葡萄糖胺糖苷酶、乙醯輔酶A：葡萄糖胺N-乙醯基轉移酶、N-乙醯葡萄糖胺6-硫酸酯酶、 β -半乳糖苷酶、 β -葡萄糖醛酸酶、天門冬胺醯胺基葡萄糖苷酶、酸性脂肪酶、 β -胺基己糖苷酶A、 β -胺基己糖苷酶B、GM2-活化因子、酸性神經醯胺酶、 α -L-岩藻糖苷酶、 α -D-甘露糖苷酶、 β -D-甘露糖苷酶、神經胺糖酸酶、磷酸轉移酶、磷酸轉

移酶g-亞基、棕櫚醯蛋白硫酸酯酶、三肽基肽酶I、組織蛋白酶K (cathepsin K)、 α -半乳糖苷酶B、唾液酸轉運體、CD45白細胞共同生物分子或LIMP II。

【0219】 在實施例中，與不測量CD63水準的相應診斷相比，使用CD63作為生物標記物減少了假陽性的比例和/或增加了真陽性的比例。

【0220】 另一態樣提供了一種治療通過如本文所定義的方法已經被診斷為患有MPS的受試者的方法，所述治療包括向所述受試者投予針對MPS的一或多種治療性治療。相關態樣提供了一種用於治療受試者的MPS的治療劑，其中所述受試者已經通過如本文所定義的方法被診斷為患有MPS。還提供了一種用於生成受試者的定量資料的方法，其中所述方法包括（例如，由以下組成）：(a) 確定來自所述受試者的樣品中的CD63水準；(b) 確定CD63的水準是否大於對照值（例如，被測量為從一或多個健康受試者取得的樣品中的CD63水準的對照值）；以及 (c) 如果所述樣品中的CD63水準大於所述對照值，則對所述受試者施用針對MPS的一或多種治療性治療。在實施例中，所述MPS選自MPS I、MPS II和MPS III。在實施例中，所述MPS是MPS I（例如，I-H、I-S或I-H/S型）。在其他實施例中，所述MPS是MPS II。在其他實施例中，所述MPS是MPS III（例如，IIIA、IIIB、IIIC或IIID型）。在實施例中，所述MPS不是MPS I。在實施例中，所述MPS不是MPS III（例如，MPS IIIA）。在實施例中，所述MPS不是MPS I或MPS III（例如，MPS IIIA）。

【0221】 在實施例中，所述治療性治療或藥劑包括（例如，由以下組成）酶替代療法、基因療法和/或造血幹細胞移植。在實施例中，所述MPS是MPS I、MPS II、MPS IV、MPS VI或MPS VII，並且所述治療性治療包括（例如，由以下組成）酶替代療法和/或造血幹細胞移植。在實施例中，所述治療性治療或藥

劑包括（例如，由以下組成）用以下的酶替代療法： α -L-艾杜糖醛酸酶、艾杜糖醛酸酶-2-硫酸酯酶、乙醯肝素-N-硫酸酯酶、 α -N-乙醯葡萄糖胺糖苷酶、 α -胺基葡萄糖苷酶、乙醯基轉移酶、N-乙醯葡萄糖胺-6-硫酸酯酶、N-乙醯葡萄糖胺-6-硫酸酯硫酸酯酶、 β -半乳糖苷酶、N-乙醯葡萄糖胺-4-硫酸酯酶、 β -葡萄糖醛酸酶或玻尿酸酶。在實施例中，所述MPS是MPS I，並且所述治療性治療包括（例如，由以下組成）向受試者投予重組 α -L-艾杜糖醛酸酶（例如，拉羅尼酶）。在其他實施例中，所述MPS是MPS II，並且所述治療性治療包括（例如，由以下組成）向受試者投予重組艾杜糖醛酸酶-2-硫酸酯酶（例如，艾杜硫酸酯酶）。在其他實施例中，所述MPS是MPS IVA，並且所述治療性治療包括（例如，由以下組成）向受試者投予重組N-乙醯半乳糖胺-6-硫酸酯酶（例如，依洛硫酸酯酶 α （elosulfase alfa））；所述MPS是MPS VI，並且所述治療性治療包括（例如，由以下組成）向受試者投予重組N-乙醯葡萄糖胺-4-硫酸酯酶（例如，加硫酶）；或者所述MPS是MPS VII，並且所述治療性治療包括（例如，由以下組成）向受試者投予重組 β -葡萄糖醛酸酶（例如，維屈尼達酶 α （vestronidase alfa））。

【0222】 另一態樣提供了一種用於監測被診斷為患有MPS的受試者的MPS的進展的方法，所述方法包括：(a) 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；(b) 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中第二樣品是在從所述受試者取得第一樣品之後從所述受試者取得的；以及(c) 比較所述第一樣品中的CD63水準與所述第二樣品中的CD63水準。典型地，所述方法進一步包括步驟(d) 如果第二樣品中的CD63水準大於第一樣品中的CD63水準，則確定所述疾病變得更加嚴重；如果第二樣品中的CD63水準與第一樣品中的CD63水準基本上相同，則確定所述受試者的疾病變沒有進展；以及如果第二樣品中的CD63

水準低於第一樣品中的CD63水準，則確定所述疾病變得不那麼嚴重。相關態樣提供了CD63作為生物標記物用於監測被診斷為患有MPS的受試者的MPS的進展的用途。以另一種方式來看，這些態樣提供了一種用於生成被診斷為患有MPS的受試者的定量資料的方法，所述方法包括以下步驟：(a) 確定來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；(b) 確定來自所述受試者的後續樣品中的CD63水準；以及(c) 將步驟 (a) 中確定的CD63水準與步驟 (b) 中確定的水準進行比較。所述方法可以包括另外的步驟 (d)，其中基於在步驟 (c) 中進行的比較來評估疾病的進展。在實施例中，所述MPS選自MPS I、MPS II和MPS III。在實施例中，所述MPS是MPS I（例如，I-H、I-S或I-H/S型）。在其他實施例中，所述MPS是MPS II。在其他實施例中，所述MPS是MPS III（例如，IIIA、IIIB、IIIC或IIID型）。在實施例中，所述MPS不是MPS I。在實施例中，所述MPS不是MPS III（例如，MPS IIIA）。在實施例中，所述MPS不是MPS I或MPS III（例如，MPS IIIA）。

【0223】 所述樣品可以是本文提及的類型。在實施例中，所述樣品含有溶體和/或外泌體。在實施例中，所述樣品選自血液、血液級分、尿液、腦脊液、痰、淋巴、真皮組織、腎臟組織、心臟組織、脾臟組織、骨髓等。最便利地，來自受試者的樣品包括（例如，由以下組成）血液、血液級分和/或尿液。在實施例中，來自受試者的樣品包括（例如，由以下組成）選自血漿和血清的血液級分。在實施例中，所述樣品是血液樣品，例如血漿樣品。在其他實施例中，所述樣品包括（例如，由以下組成）尿液。在其他實施例中，所述樣品包括（例如，由以下組成）CSF。在實施例中，所述樣品不包括纖維母細胞。

【0224】 在實施例中，以至少約1天，例如至少約2、3或4天，或至少約1、2或4週的間隔從受試者取得第一和第二（或隨後）樣品。在其他實施例中，以

至少約8週，例如至少約9、10、12、15或20週的間隔從受試者取得第一和第二（或隨後）樣品。

【0225】 在實施例中，所述方法包括對例如以上述指定的間隔從受試者取得的一或多個另外的樣品進行持續測量。

【0226】 另一態樣提供了一種用於監測被診斷為患有MPS的受試者的針對MPS的治療進展的方法，所述方法包括：(a) 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；(b) 向所述受試者投予針對MPS的治療性治療；以及(c) 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中所述第二樣品是在投予所述治療性治療之後從所述受試者取得的。典型地，所述方法進一步包括步驟(d)：如果所述第二樣品中的CD63水準低於所述第一樣品中的CD63水準，則確定所述治療成功。在實施例中，如果步驟(c)中確定的CD63水準與步驟(a)中確定的CD63水準基本上相同或大於步驟(a)中確定的CD63水準，則將增加所述治療性治療的劑量（例如，投予的量和/或頻率）。相關態樣提供了CD63作為生物標記物用於監測被診斷為患有MPS的受試者的MPS的治療進展的用途。以另一種方式來看，這些態樣提供了一種用於生成患有MPS的受試者的定量資料的方法，所述方法包括以下步驟：(a) 確定來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；以及(b) 在向所述受試者投予針對MPS的治療性治療後，確定來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準。在實施例中，如果步驟(b)中確定的CD63水準與步驟(a)中確定的CD63水準基本上相同或大於步驟(a)中確定的CD63水準，則將增加所述治療性治療的劑量。在實施例中，所述MPS選自MPS I、MPS II和MPS III。在實施例中，所述MPS是MPS I（例如，I-H、I-S或I-H/S型）。在其他實施例中，所述MPS是MPS II。在其他實施例中，所述MPS是MPS III（例如，IIIA、IIIB、IIIC或IIID

型)。在實施例中，所述MPS不是MPS I。在實施例中，所述MPS不是MPS III（例如，MPS IIIA）。在實施例中，所述MPS不是MPS I或MPS III（例如，MPS IIIA）。

【0227】 在實施例中，針對MPS的治療是如本文所述的。因此，所述治療可以包括（例如，由以下組成）酶替代療法、基因療法或造血幹細胞移植。在實施例中，所述MPS是MPS I、MPS II、MPS IV、MPS VI或MPS VII，並且所述治療包括（例如，由以下組成）酶替代療法和/或造血幹細胞移植。在實施例中，所述治療性治療或藥劑包括（例如，由以下組成）用以下的酶替代療法： α -L-艾杜糖醛酸酶、艾杜糖醛酸酶-2-硫酸酯酶、乙醯肝素-N-硫酸酯酶、 α -N-乙醯葡萄糖胺糖苷酶、 α -胺基葡萄糖苷酶、乙醯基轉移酶、N-乙醯葡萄糖胺-6-硫酸酯酶、N-乙醯葡萄糖胺-6-硫酸酯硫酸酯酶、 β -半乳糖苷酶、N-乙醯葡萄糖胺-4-硫酸酯酶、 β -葡萄糖醛酸酶或玻尿酸酶。在實施例中，所述MPS是MPS I，並且所述治療包括（例如，由以下組成）向受試者投予重組 α -L-艾杜糖醛酸酶（例如，拉羅尼酶）。在其他實施例中，所述MPS是MPS II，並且所述治療包括（例如，由以下組成）向受試者投予重組艾杜糖醛酸酶-2-硫酸酯酶（例如，艾杜硫酸酯酶）。在其他實施例中，所述MPS是MPS IVA，並且所述治療包括（例如，由以下組成）向受試者投予重組N-乙醯半乳糖胺-6-硫酸酯酶（例如，依洛硫酸酯酶 α ）；所述MPS是MPS VI，並且所述治療包括（例如，由以下組成）向受試者投予重組N-乙醯葡萄糖胺-4-硫酸酯酶（例如，加硫酶）；或者所述MPS是MPS VII，並且所述治療包括（例如，由以下組成）向受試者投予重組 β -葡萄糖醛酸酶（例如，維屈尼達酶 α ）。

【0228】 第二樣品典型地是在從治療性治療的投予起經過一段時間後取

得的。在實施例中，第二樣品是在投予治療性治療後（例如，在開始之後）至少約1週（例如，投予治療性治療後至少約2、3、4、6、8、10、12、15或20週）從受試者取得的。在一個實施例中，在開始治療性治療後至少約8週，從受試者取得第二樣品。

【0229】 在實施例中，所述方法包括對例如以約每1週，諸如約每2、4、6、8、10或12週的間隔從受試者取得的一或多個其他樣品進行持續測量。在基於受試者中CD63水準的變化調整療法的劑量的情況下，這種正在進行的測量可能特別有價值。

【0230】 另一態樣提供了一種治療有需要的患者的MPS的方法，其中所述患者具有高於受試者的健康群體的平均值的高於正常的血漿CD63水準（例如，至少約0.25個標準差，諸如至少約0.5、0.75、1、或1.5個標準差的水準），所述方法包括向所述患者投予有效量的針對MPS的治療性治療。在實施例中，健康受試者群體是具有相似遺傳背景的群體，例如，與患者具有相同血統和/或地理位置的群體。在實施例中，所述MPS選自MPS I、MPS II和MPS III。在實施例中，所述MPS是MPS I（例如，I-H、I-S或I-H/S型）。在其他實施例中，所述MPS是MPS II。在其他實施例中，所述MPS是MPS III（例如，IIIA、IIIB、IIIC或IIID型）。在實施例中，所述MPS不是MPS I。在實施例中，所述MPS不是MPS III（例如，MPS IIIA）。在實施例中，所述MPS不是MPS I或MPS III（例如，MPS IIIA）。

【0231】 另一態樣提供了一種治療被診斷為有風險患上MPS的受試者的所述疾病的方法，其中所述患者具有高於先前從所述受試者取得的樣品中的對照水準（例如，比血漿對照水準高至少約10%，諸如至少約20%、30%、40%、50%、60%、80%或100%）的血漿CD63水準，所述方法包括向所述受試者投予有效量

的針對MPS的治療性治療（例如，如上文所述）。在實施例中，血漿對照水準來自在測量所述血漿CD63水準之前約1與約52週之間（例如，4與32週之間，或12與26週之間，諸如約12週、16週、22週、26週或30週），從受試者抽取的樣品。在實施例中，對照值是通過測量從受試者抽取的單一樣品中的CD63水準而得出的。在其他實施例中，對照值是從測量從受試者抽取的多個樣品（例如，2、3、4、6、8或更多個樣品）中的CD63水準得出的平均值。在實施例中，所述MPS選自MPS I、MPS II和MPS III。在實施例中，所述MPS是MPS I（例如，I-H、I-S或I-H/S型）。在其他實施例中，所述MPS是MPS II。在其他實施例中，所述MPS是MPS III（例如，IIIA、IIIB、IIIC或IIID型）。在實施例中，所述MPS不是MPS I。在實施例中，所述MPS不是MPS III（例如，MPS IIIA）。在實施例中，所述MPS不是MPS I或MPS III（例如，MPS IIIA）。

【0232】 另一態樣提供了一種降低患有MPS的患者中（例如，所述患者的血液中）的CD63水準的方法，所述方法包括向所述患者投予有效量的治療性治療（例如，如本文所述的酶替代療法）的步驟。在實施例中，CD63的降低是血漿CD63水準的降低。在實施例中，所述MPS選自MPS I、MPS II和MPS III。在實施例中，所述MPS是MPS I（例如，I-H、I-S或I-H/S型）。在其他實施例中，所述MPS是MPS II。在其他實施例中，所述MPS是MPS III（例如，IIIA、IIIB、IIIC或IIID型）。在實施例中，所述MPS不是MPS I。在實施例中，所述MPS不是MPS III（例如，MPS IIIA）。在實施例中，所述MPS不是MPS I或MPS III（例如，MPS IIIA）。

【0233】 另一態樣提供了一種治療或預防被評估為有風險患上MPS的受試者的MPS的發展或進展的方法，所述方法包括以下步驟：**(a)** 從所述受試者中

取得第一生物樣品（例如，血液或血液級分，諸如血漿），並且分析所述樣品的CD63濃度；(b) 如果所述CD63濃度高於對照值，開始對所述受試者進行治療性治療過程（例如，治療有效量的酶替代療法，諸如本文所述的那些），以及視情況地：(c) 在治療所述受試者之後，從所述受試者取得第二生物樣品（例如，與第一生物樣品同一類型）並且分析所述樣品的CD63濃度以確定CD63水準的變化；以及(d) 基於觀察到的CD63水準的變化調整所述治療性治療。在實施例中，所述MPS選自MPS I、MPS II和MPS III。在實施例中，所述MPS是MPS I（例如，I-H、I-S或I-H/S型）。在其他實施例中，所述MPS是MPS II。在其他實施例中，所述MPS是MPS III（例如，IIIA、IIIB、IIIC或IIID型）。在實施例中，所述MPS不是MPS I。在實施例中，所述MPS不是MPS III（例如，MPS IIIA）。在實施例中，所述MPS不是MPS I或MPS III（例如，MPS IIIA）。

【0234】 在實施例中，對照值比先前從同一受試者取得的樣品中的對照水準高約10%（例如，比對照水準高約20%、30%、40%、50%、60%、80%或100%）。在實施例中，對照水準是通過測量從受試者抽取的單一樣品中的CD63水準而得出的。在其他實施例中，對照值是從測量從受試者抽取的多個樣品（例如，2、3、4、6、8或更多個樣品）中的CD63水準得出的平均值。在實施例中，血漿對照水準來自在測量所述血漿CD63水準之前約1與約52週之間（例如，4與32週之間，或12與26週之間，諸如約12週、16週、22週、26週或30週），從受試者抽取的樣品。

【0235】 在實施例中，針對MPS的治療是如本文所述的。因此，所述治療可以包括（例如，由以下組成）酶替代療法、基因療法和/或造血幹細胞移植。在實施例中，所述治療包括（例如，由以下組成）用以下的酶替代療法： α -L-

艾杜糖醛酸酶、艾杜糖醛酸酶-2-硫酸酯酶、乙醯肝素-N-硫酸酯酶、 α -N-乙醯葡萄糖胺糖苷酶、 α -胺基葡萄糖苷酶、乙醯基轉移酶、N-乙醯葡萄糖胺-6-硫酸酯酶、N-乙醯葡萄糖胺-6-硫酸酯硫酸酯酶、 β -半乳糖苷酶、N-乙醯葡萄糖胺-4-硫酸酯酶、 β -葡萄糖醛酸酶或玻尿酸酶。

【0236】 第二樣品典型地是在從治療性治療的投予起經過一段時間後取得的。在實施例中，第二樣品是在投予治療性治療後（例如，在開始之後）至少約1週（例如，投予治療性治療後至少約2、3、4、6、8、10、12、15或20週）從受試者取得的。在一個實施例中，在開始治療性治療後至少約8週，從受試者取得第二樣品。

【0237】 在實施例中，所述方法包括對例如以約每約1週，諸如約每2、4、6、8、10或12週的間隔從受試者取得的一或多個其他樣品進行持續測量。在基於受試者中CD63水準的變化調整療法的劑量的情況下，這種正在進行的測量可能特別有價值。

【0238】 另一態樣提供了一種用於調整接受針對MPS的治療性治療的受試者的所述治療性治療的劑量的方法，所述方法包括：(a) 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；(b) 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中所述第二樣品是在投予一或多個劑量的所述治療性治療之後從所述受試者取得的；以及(c) 基於所述第一樣品中的CD63水準與所述第二樣品中的CD63水準之間的差異來調整所述治療性治療的劑量。典型地，步驟 (c) 中的劑量調整包括：如果第二樣品中的CD63水準低於第一樣品中的CD63水準，則維持所述治療性治療的劑量，並且如果第二樣品中的CD63水準與第一樣品中的CD63水準基本上相同或大於第一樣品中的CD63水準，則增加所述治療性治療的劑量（例如，

投予量和/或頻率)。在實施例中，如果第二樣品中的CD63水準低於第一樣品中的CD63水準，則降低所述治療性治療的劑量（例如，投予量和/或頻率）。相關態樣提供了CD63作為生物標記物用於調整接受針對MPS的治療性治療的受試者的所述治療性治療的劑量的用途。在實施例中，所述MPS選自MPS I、MPS II和MPS III。在實施例中，所述MPS是MPS I（例如，I-H、I-S或I-H/S型）。在其他實施例中，所述MPS是MPS II。在其他實施例中，所述MPS是MPS III（例如，IIIA、IIIB、IIIC或IIID型）。在實施例中，所述MPS不是MPS I。在實施例中，所述MPS不是MPS III（例如，MPS IIIA）。在實施例中，所述MPS不是MPS I或MPS III（例如，MPS IIIA）。

測定

【0239】 可用於測量和定量生物樣品中的CD63水準的測定是已知的。在下面的實例中給出了合適的測定的具體例子。總體上來說，所述測定依賴於具有與CD63特異性結合的分子（例如，抗體），並且其本身可以直接或經由另一種結合配偶體（例如，使用標記的通用抗體）被檢測和/或定量。

【0240】 因此，在實施例中，通過以下進行CD63檢測和/或定量：免疫測定（例如，ELISA、微流體ELISA、或基於珠的高靈敏度ELISA、或鄰近延伸測定）、質譜法、微晶片、生物物理測定（例如，使用抗CD63捕獲抗體的表面等離子體共振，諸如來自Biocore[®]）、奈米針生物陣列（例如，來自Nanomosaic[®]）或核酸結合適配體（例如，來自Somalogic[®]）。示例性實施例採用ELISA，例如間接或夾心ELISA，其中：一抗或捕獲抗體與CD63特異性結合（例如，與人CD63結合的小鼠抗體）；並且二抗或檢測抗體與第一抗體（例如，山羊抗小鼠IgG）

或CD63的不同部分結合，並且被標記用於檢測和/或定量。一抗或捕獲抗體典型地是單株抗體，其可以與來自一個物種或來自多於一個物種的CD63反應。此類抗體可從商業來源（例如，Invitrogen[®]、AbCam[®]等）廣泛獲得。此外，CD63的序列是熟知的，並且技術人員可以使用標準技術產生針對CD63的單株抗體（還參見「Leukocyte and Stromal Cell Molecules: The CD Markers」，Wiley; 編輯Zola等人, 2007, 第150頁）。另一個示例性實施例採用細胞分選技術，例如使用針對CD63、CD8和/或CD81的螢光標記抗體的FACS。

【0241】 替代性示例性實施例採用鄰近延伸測定，其使用匹配的結合CD63的抗體對，其中將匹配的抗體對中的每一個都用獨特的寡核苷酸標記，使得在抗體與它們的靶標結合時，寡核苷酸會發生雜交。然後將退火產物通過PCR擴增並且檢測（例如，以多工方式），典型地在高通量流體晶片系統中。

【0242】 可以例如純化用於根據本發明方法使用的樣品，和/或將其與樣品中的其他（例如，非含CD63的）組分分離。也可以濃縮樣品的目的組分，例如外泌體。用於濃縮和/或純化外泌體和其他含CD63組分的方法是本領域已知的和/或在本文中描述。舉例來說，可以通過超速離心和/或抗體捕獲方法來富集樣品的外泌體。血漿、血清、尿液或細胞培養物樣品的超速離心可以包括例如以100,000 g離心以沈澱外泌體並且將其重新懸浮在適當的緩衝液中。親和力捕獲方法可以例如使用抗體包被的珠來捕獲外泌體膜靶標，然後通過離心或使用磁體來回收珠。

套組

【0243】 另一態樣提供了一種用於（例如，適用於）檢測或診斷來自受試

者的樣品中的溶體功能障礙或異常醣神經鞘脂質加工的套組，所述套組包含用於檢測CD63的手段和視情況地用於檢測溶體功能障礙的一或多種其他生物標記物的手段。在實施例中，用於檢測CD63的手段包含抗CD63抗體（例如，單株抗體）。在實施例中，用於檢測CD63的手段包含抗CD63抗體對，其中的每一種均與獨特的寡核苷酸連接，從而當抗體對與CD63結合時，獨特的寡核苷酸可以雜交。

【0244】 另一態樣提供了一種用於（例如，適用於）監測特定溶體儲積症的進展或監測特定溶體儲積症對受試者的治療的反應的套組，所述套組包括用於檢測CD63的手段和視情況地用於檢測溶體功能障礙的一或多種其他生物標記物的手段。在實施例中，用於檢測CD63的手段包含抗CD63抗體（例如，單株抗體）。在實施例中，用於檢測CD63的手段包含抗CD63抗體對，其中的每一種均與獨特的寡核苷酸連接，從而當抗體對與CD63結合時，獨特的寡核苷酸可以雜交。

【0245】 又另一態樣提供了一種用於（例如，適用於）檢測或診斷受試者的特定溶體儲積症的套組，所述套組包含：(a) 用於檢測來自所述受試者的樣品中的CD63的手段；和 (b) 用於檢測來自所述受試者的樣品中的所述溶體儲積症的一或多種生物標記物的手段。在實施例中，用於檢測CD63的手段包含抗CD63抗體（例如，單株抗體）。在實施例中，用於檢測CD63的手段包含抗CD63抗體對，其中的每一種均與獨特的寡核苷酸連接，從而當抗體對與CD63結合時，獨特的寡核苷酸可以雜交。

【0246】 在實施例中，所述溶體儲積症是法布瑞氏症，並且所述套組包含：(a) 用於檢測來自受試者的樣品中的CD63的手段（例如，抗CD63抗體或匹配的

抗CD63抗體對，其中的每一種抗體均與獨特的寡核苷酸連接）；和 (b) 用於檢測樣品中法布瑞氏症的一或多種生物標記物的手段（例如，用於檢測樣品中的GL3和/或lyso-GL3的手段）。

【0247】 在實施例中，所述溶體儲積症是高雪氏症，並且所述套組包含：(a) 用於檢測來自受試者的樣品中的CD63的手段（例如，抗CD63抗體或匹配的抗CD63抗體對，其中的每一種抗體均與獨特的寡核苷酸連接）；和 (b) 用於檢測樣品中的高雪氏症的一或多種生物標記物的手段（例如，用於檢測樣品中的lyso-GL1的手段）。

【0248】 在實施例中，所述溶體儲積症是MPS（例如，MPS I、MPS II或MPS III），並且所述套組包含：(a) 用於檢測來自受試者的樣品中的CD63的手段（例如，抗CD63抗體或匹配的抗CD63抗體對，其中的每一種均與獨特的寡核苷酸連接）；和 (b) 用於檢測樣品中的MPS的一或多種生物標記物的手段，諸如用於檢測樣品中的硫酸皮膚素和視情況地還有硫酸乙醯肝素（例如，在MPS I的情況下）的手段、用於檢測樣品中的硫酸皮膚素和硫酸乙醯肝素（例如，在MPS II的情況下）的手段、或用於檢測樣品中的硫酸乙醯肝素（例如，在MPS III的情況下）的手段。

【0249】 本公開文本的套組可以進一步包含在本文所述的一或多種方法中（例如，在用於檢測和/或診斷生物樣品中的溶體儲積症、溶體功能障礙或異常醣神經鞘脂質加工的一或多種方法中）的套組的使用說明書。

【0250】 已經在本文中進行了總體描述，提供了以下非限制性例子以進一步說明本公開文本。

實例

實驗方案

蛋白質測定

【0251】 根據製造商的說明，通過Olink[®]譜分析（如以下所述）使用Olink[®]Target96 Neuro-Exploratory panel（Olink Proteomics AB，瑞典烏普薩拉）測量CD63。

【0252】 根據Schoonhoven等人, Clin Chim Acta. (2007) 381(2):136-139（稍有修改）中所述的方法測定幾丁三糖苷酶活性。簡言之，將5 μ L血清樣品與100 μ L在0.1 M/0.2 M檸檬酸鹽-磷酸鹽緩衝液中的26 μ M 4-甲基傘形基- β -D-N,N',N''-三乙醯基殼糖三苷（Sigma，M5639）混合。將此混合物在37°C下培育15 min。為了停止反應，添加甘胺酸-氫氧化鈉緩衝液（210 μ L 0.5 M Gly-NaOH，pH 10.6）。使用讀板儀（Biotek[®]）在360 nm激發和455 nm發射下測量螢光。也可以根據Adelino等人, JIMD Rep. (2013) 9:85-91所述的方法進行測定幾丁三糖苷酶活性，並且以nmol/hr/ml為單位報告。

【0253】 根據Boot等人, Blood (2004) 103(1):33-39中描述的方法，通過夾心ELISA測量CCL18水準。

【0254】 可以使用Olink[®]（Olink Proteomics AB，瑞典烏普薩拉）譜分析根據製造商推薦的方案（對於示例性方法，參見例如，Assarsson等人, PLoS ONE (2014) 9(4):e95192；和Jabbari等人, Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry (2019) 90:768-773）進行蛋白質檢測。用於Olink[®]方案的鄰近擴展測定（PEA）技術已經被很好地描述（Assarsson等人, 2014, 同上），並且能夠使用1 μ L的每種樣品同時分析待分析的每組92個分析物。簡言之，寡核苷酸標記的抗體探針

對與它們的靶蛋白結合，並且如果將這兩個探針緊密靠近，則寡核苷酸將以成對的方式雜交。添加DNA聚合酶會導致鄰近依賴性DNA聚合事件，產生獨特的PCR靶序列。隨後可以使用微流體即時PCR儀器（Biomark HD，Fluidigm）檢測並且定量所得的DNA序列。然後使用內部擴展對照和板間對照對資料進行品質控制和標準化，以調整運行內變化和運行間變化。最終的測定讀出以標準化的蛋白質表現（Normalized Protein eXpression，NPX）值呈現，所述值是log₂標度上的任意單位，其中高的值對應於較高的蛋白質表現。所有測定驗證資料（例如，檢測限、測定內精密度數據和測定間精密度數據等）、實驗方案和資料處理可以在製造商的網站（www.olink.com）上獲得。

【0255】 可以對PEA測定進行校準以定量蛋白質水準，例如CD63的蛋白質水準。典型地，這涉及製備已知濃度的樣品（例如，通過在如上文所定義的緩衝液中的滴定稀釋）和生成絕對濃度校準曲線。儘管可以使用已知技術在杆狀病毒或大腸桿菌（*E. coli*）系統中表現蛋白質，但是典型地獲得（例如，從商業供應商）的重組人CD63已經在哺乳動物表現系統中產生以促進正確的折疊和/或轉譯後修飾（例如，糖基化）。可以使用熟知的方法（例如，使用用已知濃度的BSA樣品的二喹啉甲酸（BCA）測定）確定濃度。還可以通過測量蛋白質水解後的總胺基酸濃度來確定濃度。在Olink[®]測定的動態範圍內選擇逐漸降低的蛋白質濃度的合適範圍。例如，可以使用3倍稀釋來產生具有1、3、9、12、36、108、324和972 pg/ml的蛋白質濃度的樣品。將0 pg/ml樣品（即，只是緩衝液）用作空白以確定背景。一旦使用已知CD63濃度的樣品進行校準，則使用測定在同一測定實驗中測試人類患者樣品。人類患者樣品典型地未經稀釋運行，但是在蛋白質水準超出校準曲線的範圍的情況下可以用已知量的緩衝液稀釋。測試

樣品中CD63的絕對濃度可以通過參考校準曲線 - 通過比較Olink[®]NPX值(例如，一式三份確定平均值) - 通過將校準樣品值擬合為針對pg/ml的線性擬合或者通過曲線擬合諸如4參數非線性曲線擬合(視情況而定)以給出良好的曲線擬合來計算。假設測試樣品NPX值在校準曲線的動態範圍內 - 例如，高於0 pg/ml空白的水準，具有可接受的變異性(例如，在20% CV內) - 通過參考擬合的校準曲線準確地確定絕對濃度。以這種方式，PEA測定可以提供蛋白質水準的絕對定量(以pg/ml計)。

【0256】 為了測量CSF中的蛋白質水準，採用以下方案：使用四個Olink[®]探索組(心臟代謝、炎症、神經病學和腫瘤學)測量CSF中的生物標記物表現，如例如通過Wik等人(「Proximity Extension Assay in Combination with NextGeneration Sequencing for High-throughput Proteome-wide Analysis, 2021, Mol Cell Proteomics 20, 100168」)所述。簡言之，將10 µL CSF樣品和Olink對照放入384孔樣品源板中，然後使用Mosquito和Dragonfly液體處理器(均來自SPT Labtech)在384孔樣品稀釋劑板中1:10、1:100、1:1000和1:100,000稀釋。對於免疫反應，使用Mosquito處理器將這些稀釋的樣品與Olink[®]探針(DNA寡聚物綴合的抗體)在384孔培育板中混合，並且在4°C下培育16-24小時。第二天，使用Dragonfly處理器將用於第一PCR擴增步驟(PCR1步驟)的試劑混合物添加到免疫反應混合物中，並且使用ProFlex PCR系統(Applied Biosciences)進行用於預擴增步驟的PCR1反應。使用epMotion 5075液體處理器(Eppendorf)彙集PCR1產物，然後使用相同的處理器添加用於第二PCR擴增步驟(PCR2步驟)的試劑，並且使用ProFlex系統進行用於擴增和樣品索引的PCR2反應。使用epMotion處理器彙集PCR2產物，以為每個Olink[®]探索組創建四個文庫，然後將產物使用磁珠純化，

並且使用Bioanalyzer 2100(Agilent)進行它們的QC。使用NovaSeq 6000(Illumina)通過下一代測序分析這四個文庫。從分析中排除具有超過10%缺失資料的分析物。未進行缺失資料的填補。

【0257】 可以使用替代方法來測量蛋白質水準（諸如CD63），包括例如使用針對CD63的抗體的免疫測定（例如，廣泛可商購獲得的ELISA、微流體ELISA諸如Protein Simple Ella、或基於珠的高靈敏度ELISA諸如SIMOA Quanterix）、使用抗CD63抗體來捕獲CD63的生物物理方法（例如，Biacore表面等離子體共振）和奈米針（例如，Nanomosaic）或核酸結合適配體（例如，Somalogic）。將用於傳統ELISA測定的血漿、血清、細胞和組織樣品典型地在樣品稀釋緩衝液中稀釋4倍或更多倍以給出可接受的測定性能（稀釋線性）。

醣神經鞘脂質的測定

【0258】 根據Murugesan等人, Am J Hematol. (2016) 91(11):1082-1089中所述的方法，通過ESI-LC-MS/MS測量醣神經鞘脂質（lyso-GL1、GL3和lyso-GL3）。簡言之，將20 μ L血漿等分試樣添加到Eppendorf管中的1 mL氯仿:甲醇（2:3）中，混合並且然後離心。將上清液取出並且用氯仿（220 μ L）和水（520 μ L）通過混合和離心萃取。將上部相用氯仿重新提取，並且添加到下部相中。將合併的樣品乾燥，重新懸浮於100 μ L甲醇:水（9:1）中，並且注入LC-MS/MS系統中進行串聯質譜分析。使用UPLC在具有兩個移動相（在水中的0.1%甲酸；和在乙腈中的0.1%甲酸）的梯度條件下實現醣神經鞘脂質和其他基質組分的分離。在選擇離子監測模式下典型地使用母體（ $M+H^+$ ）離子躍遷（例如，對於lyso-GL1， m/z 462.5 > 282.4）進行質譜法（MS）。使用已知糖鞘脂標準品（二甲基鞘胺醇半乳

糖苷， $^{13}\text{C}_6$ 標記的lyso-GL3 (GelbChem) 和C17-GL3 (Matreya LLC, 目錄號1523) 分別作為lyso-GL1、lyso-GL3和GL3的內標) 校準測定。

樣品製備

【0259】 血漿和血清樣品製備遵循標準方案。通過混合/攪動製備細胞樣品。將組織樣品通過勻漿溶解於標準緩衝液 (例如, PBS; 或50 mM Tris/HCl pH 7.5, 視情況地含有溫和的洗滌劑諸如0.1% TWEEN20和/或載體蛋白諸如1% BSA, 其可以改善穩定性和/或再現性) 中。另外的洗滌劑 (例如, 至多1% Triton) 典型地以較高的濃度添加到組織樣品中以說明溶解。血漿和血清樣品典型地在Olink[®] 測定中未經稀釋運行。細胞和組織樣品的製備涉及添加緩衝液至在Olink[®] 測定的動態範圍內的最終蛋白質濃度。

【0260】 可以例如使用如本文所述的FACS來富集待測試的樣品的外泌體。用於外泌體富集或純化的替代方法包括超速離心和抗體捕獲方法, 這兩種方法都是已知且易於獲得的。用於從血漿/血清、尿液或細胞培養物製備外泌體的標準超速離心將包括, 例如, 使用典型的轉子和容納10 ml-50 ml樣品的桶, 在典型的落地式超速離心機中以100,000 g離心1小時, 或者使用0.5 ml或1.5 ml樣品管在臺式超速離心機中離心5分鐘。外泌體沈澱到管的底部, 並且將其重新懸浮於適當的緩衝液中。可獲得用於外泌體和外泌體表面/膜蛋白的抗體親和力捕獲的商業套組 (例如, 來自System Biosciences Inc.)。所述方法典型地使用抗體包被的珠來捕獲外泌體靶標, 然後通過離心或使用磁體來回收珠。

患者樣品和對照樣品的LSD的生物標記物的分析

來自法布瑞氏症患者和正常對照的血漿

【0261】 從3個不同的群組 - 以下稱為 (i) ACT/LTS、(ii) 群組1和 (iii) 群組2 - 獲得FD患者的血漿。

【0262】 從Sanofi - 文魯司他II期試驗取得ACT/LTS樣品。此試驗僅由男性患者組成。他們的人口統計學資訊在下表1中給出。Sanofi - 文魯司他II期試驗是一項縱向研究，並且按以下6個設定的間隔收集患者血漿：基線（0週）、12週、26週、52週、104.2週和156.4週。一些病人缺失時間點。在此試驗期間，將所有患者均用文魯司他（受質減少療法 - SRT）治療。

【0263】 群組1是阿爾伯塔大學（University of Alberta）的Gavin Oudit博士提供的血漿樣品的集合。患者人口統計學在下表1中給出。簡言之，這些血漿樣品來自年齡範圍25至68歲的男性患者和女性患者的混合。它們是非縱向樣品（例如，每位患者1個樣品），並且血漿樣品是經治療的法布瑞氏症患者（酶替代療法 - ERT）、未經治療的法布瑞氏症患者和健康對照受試者的混合。

【0264】 群組2是明尼蘇達大學（University of Minnesota）的Michael Mauer博士提供的血漿樣品的集合。患者人口統計學在下表1中給出。簡言之，這些血漿樣品來自年齡範圍4至59歲的男性患者和女性患者的混合。它們大多是非縱向樣品（例如，每個患者 < 3個樣品）。存在一些具有基線的縱向患者，以及一些不具有基線的縱向患者。血漿樣品來自經治療（酶替代療法 - ERT）和未經治療的法布瑞氏症患者的混合。

【0265】 法布瑞氏症血漿樣品的健康對照主要來自商業來源（Sanguine Bioscience和BioIVT）。這些血漿樣品的年齡和性別與法布裡群組匹配，並且其人口統計學在下表1中給出。群組1樣品提供了另外的健康對照。

表1：法布瑞氏症群組的患者人口統計學

群組	法布瑞氏症樣品				健康對照樣品			
	ACT/LTS	群組1 (患病)	群組2	總計	BioIVT	Sanguine	群組1 (健康)	總計
樣品數量(n)	44	23	48	115	28	35	12	75
年齡(平均值)	29	42	32		27	40	42	
年齡(範圍)	18至40	25至68	4至59	4至68	19至35	18至64	24至61	18至64
男性患者計數	9	13	14	36	28	15	7	50
女性患者計數	0	10	13	23	0	20	5	25
未經處理的樣品 (基線)	9	7	30	46				
經處理的樣品	35	16	25	76				
ERT	0	16	25	41				
SRT	35	0	0	35				
具有基線的縱向	9	0	2	11				
不具有基線的縱向	0	0	2	2				

來自高雪氏症患者和正常對照的血清

【0266】 來自高雪氏症群組的樣品來自耶魯大學 (Yale University) (Pram Mistry教授)。患者人口統計學在下表2中給出。簡言之，高雪氏症群組由來自21名患者 (男性和女性均有) 的89個樣品組成。這些樣品跨很大的年齡範圍，平均年齡為50.5歲。其中只有2名患者具有基線樣品，但是15名患者具有縱向資料。大多數縱向資料來自最初治療後數年取得的樣品。大多數患者用ERT治療，但是有一些患者在治療過程中的某個時間點改為SRT。

【0267】 健康對照樣品來自商業 (BioIVT) 和內部 (Genzyme供體計畫樣品，非臨床和內部臨床研究) 來源。患者人口統計學在下表2中給出。簡言之，存在43個健康供體的43個樣品；沒有縱向健康對照樣品。高雪氏症群組的健康對照患者的平均年齡為45歲，並且年齡範圍廣泛覆蓋與患病樣品的年齡相似的

範圍。

表2：高雪氏症群組的患者人口統計學

群組	高雪氏症樣品	對照樣品
樣品數量(n)	89	43
年齡(平均值)	50.5	45
年齡(範圍)	5至83	24至76
男性患者計數	8	14
女性患者計數	13	29
未經處理的樣品(基線)	2	
經處理的樣品	87	
ERT	20	
SRT	5	
具有基線的縱向	2	
不具有基線的縱向	13	

來自MPS患者和正常對照的血漿

【0268】 MPS群組的患者人口統計學（由Giugliani博士-阿雷格里港（Univ Porto Alegre）提供的樣品）在下表3中給出。簡言之，患者均年輕，平均年齡為約6歲。存在28名患者的28個樣品；此群組中沒有縱向樣品。樣品來自男性受試者和女性受試者的混合。此外，沒有患者正在接受治療，因此他們都是基線疾病樣品。患者疾病覆蓋MPS I、MPS II和MPS IIIA，代表人數幾乎相等。

【0269】 健康對照群組中的患者人口統計學（來自BioIVT的樣品）在下表3中給出。健康對照群組中的患者與疾病患者的年齡匹配；他們都是平均年齡為約6歲的小兒樣品。總共存在來自19名患者（男性供體和女性供體兩者的混合）

的19個健康對照樣品。

表3：MPS群組的患者人口統計學

群組	MPS樣品	對照樣品
樣品數量(n)	28	19
年齡(平均值)	5.9	6.3
年齡(範圍)	0.75至26	1至12
男性患者計數	16	8
女性患者計數	12	11
未經處理的樣品(基線)	28	
經處理的樣品	0	

來自MPS患者和高雪氏症(3型)患者的CSF

【0270】雖然血清生物標記物可以提供對系統變化的洞察，但是腦脊液(CSF)生物標記物的分析可能提供對CNS內發生的神經過程的直接且更準確的評估。因此，研究了CD63作為CSF生物標記物用於檢測MPS以及用於檢測GD3並且評價GD3中的治療反應的潛力。

【0271】根據中心特異性方案，從每個中心的同意患者中精心收集CSF樣品，以確保一致性和可靠性。為了最小化批次影響，在鋪板期間基於中心、性別和疾病狀態對樣品進行隨機分配。採用Olink蛋白質組學方法(上文)來對CSF樣品中蛋白質生物標記物的變化進行譜分析。

【0272】MPS群組的患者人口統計學在下表4中給出。由於我們的資料表明CD63無顯著的年齡相關差異，因此健康成人CSF樣品可以作為參考對照，允許進行對比分析。對照組年齡不匹配(小兒CSF對照樣品不容易獲得)。

表4：MPS/CSF群組的患者人口統計學

組(n)	性別(男/女)	年齡(歲)
對照(40)	19/21	20-60
MPS I (17)	11/6	2-15、19、29、30
MPS II (11)	11/0	2-16、21、29

【0273】在患者知情同意的情況下，收集用於GD3研究的患者樣品作為Sanofi贊助的LEAP試驗的一部分（關於詳細資訊，參見例如Schiffmann等人, Brain (2023) 146(2):461-474）。當患者接受文魯司他和伊米苷酶（Cerezyme®，Sanofi，美國劍橋）的組合治療時，在基線以及第26週和第52週，通過腰椎穿刺獲得11名成年患者的樣品。將健康成人CSF樣品用作對照。採用Olink蛋白質組學方法（上文）來分析CSF樣品中蛋白質生物標記物的變化。

結果和結論

【0274】對法布瑞氏症樣品進行的測定的結果表明，在未經治療的法布瑞氏症患者的血漿中CD63顯著上調（圖1A中所示的縱向研究中的「基線」）。在治療時，CD63水準在30個月的時間段內下降，朝向健康水準（圖1A；「線性NPX」）。在12週後觀察到對治療的反應，並且隨後CD63水準的降低在幾年中是一致的（圖2；示出了從12週到156.4週CD63的估計邊際平均（ \log_2 ）值的線性下降）。在其患者間變異性方面，CD63對文魯司他治療的反應與典型法布瑞氏症生物標記物GL3和lyso-GL3可比較（圖3A）。當單獨分析時，CD63和lyso-GL3的患者內變異性遠低於GL3（圖3C），男性法布瑞氏症患者的CD63反應看起來比女性患者的更大（圖8A）。

【0275】對來自高雪氏症群組的樣品的分析表明，與健康對照相比，高雪

氏症患者血漿中的CD63也顯著上調（圖4）。與女性高雪氏症患者相比，來自男性高雪氏症患者的樣品中的CD63水準看起來幾乎沒有差異（圖8B）。接受長期治療的高雪氏症患者中的CD63水準的逐日變異性（圖5A）低於其他已建立的生物標記物（諸如lyso-GL1（圖5B）或幾丁三糖苷酶（圖5C））的變異性。這種低水準的患者內變異性是非常顯著的（圖6C； $p < 0.002$ ），並且建立了CD63作為特殊生物標記物用於監測LSD狀態和進展，特別是與已知生物標記物lyso-GL1和幾丁三糖苷酶相比。此外，CD63水準與高雪氏症的已知生物標記物水準相關（圖6D）。

【0276】 MPS患者（圖7A）（男性和女性兩者（圖8C））的CD63水準也顯著升高。儘管分佈的不同概況可能暗示每個群體的子類型中的一些差異，但是男性和女性患者的平均CD63水準之間看起來沒有統計學上顯著的區別（圖7B， $p > 0.05$ ；還參見圖8C）。這一觀察結果進一步支持了CD63作為通用生物標記物用於檢測和/或監測LSD的用途。

【0277】 與健康對照相比，來自男性成年法布瑞氏症患者的樣品的Olink[®] 譜分析表明，CD63是顯示出最顯著上調的蛋白質（圖9）。

【0278】 從MPS CSF樣品中收集的資料的分析揭示了在CD63的情況下令人信服的結果。圖10（箱形圖）示出了與對照組（NPX值 = -6.402）相比，MPS患者中的CD63水準顯著升高（MPS I和MPS II的NPX值分別 = -3.186和-3.037）。MPS I/MPS II與健康參考之間的差異的p值均 < 0.001 。這些發現結果有力地支持了CD63作為CSF中MPS的生物標記物的可行性和臨床實用性。

【0279】 縱向GD3樣品還表明，基線時CSF中的CD63水準與健康對照的平均值相比顯著升高（圖11A），以及隨著治療時間的推移而降低。在個別患者中

觀察到相同的趨勢（圖11B）。特別地，與健康對照相比，基線GD3患者的CD63水準顯著升高（圖11A），對照患者和GD3患者的NPX值分別為-6.1和-4.3。即使不考慮疾病嚴重性，統計學分析也顯示出很高的顯著性（p值為0.0036），表明兩組之間有明顯的區別。此外，用文魯司他（一種可穿透腦的研究性葡萄糖神經醯胺合酶抑制劑）的治療始終導致CD63水準的降低，這表明治療的有效性。此外，CD63的變化與CSF中的lysoGL-1變化的資料呈正相關，這進一步支持了CD63作為CSF中GD3的診斷標記物的潛力。

【0280】 這些發現結果突出了CD63作為CSF生物標記物用於檢測和監測GD3的潛在用途。通過評價CSF中的CD63水準，我們可以獲得對GD3疾病進展和治療反應有價值的洞察。

【0281】 上文討論的結果表明，CD63是一種循環生物標記物，可用於評估一般意義上的溶體儲積症發病機理，尤其可用於涉及溶體醣神經鞘脂質途徑的LSD（目前尚無可用的單一生物標記物）。用於定量和監測CD63的簡單測定（諸如ELISA）的現成可用性以及其在血液樣品中經證明的用途使得CD63在這種背景下成為特別有吸引力的生物標記物。

【0282】 另外，在特徵或態樣按馬庫西式群組（Markush group）描述的情況下，本領域技術人員應認識到，這些特徵或態樣因此也按馬庫西式群組的任何單獨成員或成員子群組來描述。

【0283】 將本文提及的所有出版物、專利申請、專利和其他參考文獻均通過引用以其整體明確地併入，其程度如同將每一個通過引用單獨併入。在矛盾的情況下，將以包括定義在內的本說明書為準。

【符號說明】無。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種診斷受試者患有或有風險患上溶體儲積症（lysosomal storage disease, LSD）的方法，所述方法包括測量來自所述受試者的樣品中的CD63水準，其中CD63是在所述方法中採用的唯一生物標記物。

【請求項2】 如請求項1所述的方法，其中所述受試者被診斷為患有或有風險患上溶體儲積症，所述溶體儲積症包括法布瑞氏症（Fabry disease）、高雪氏症（Gaucher disease）、MPS I型、MPS II型和MPS III型。

【請求項3】 一種檢測或診斷受試者的溶體功能障礙的方法，所述方法包括測量來自所述受試者的樣品中的CD63水準，其中CD63是所述方法中採用的唯一生物標記物。

【請求項4】 一種檢測或診斷受試者的異常醣神經鞘脂質（glycosphingolipid）加工的方法，所述方法包括測量來自所述受試者的樣品中的CD63水準，其中CD63是在所述方法中採用的唯一生物標記物。

【請求項5】 一種用於生成受試者的定量資料的方法，所述方法包括確定來自所述受試者的樣品中的單一生物標記物的水準，其中所述生物標記物是CD63。

【請求項6】 如請求項1-5中任一項所述的方法，其中所述受試者先前未被診斷為患有LSD和/或未被評估與溶體功能障礙或異常醣神經鞘脂質加工相關的風險因素。

【請求項7】 如請求項1-6中任一項所述的方法，其中所述樣品包括（例如，由以下組成）選自血漿和血清的血液級分。

【請求項8】 如請求項1-7中任一項所述的方法，其中如果CD63的水準大於

對照值，則所述受試者被診斷為患有或有風險患上溶體儲積症或被診斷為患有溶體功能障礙或異常醣神經鞘脂質加工，其中所述對照值被測量為在較早時間點從同一受試者或從一或多個健康受試者取得的樣品中的CD63水準。

【請求項9】 CD63作為生物標記物在診斷受試者的溶體儲積症、檢測或診斷受試者的溶體功能障礙、或者檢測或診斷受試者的異常醣神經鞘脂質加工中的用途，其中CD63用作所述檢測或診斷中的唯一生物標記物。

【請求項10】 一種診斷疑似有風險患上法布瑞氏症的受試者的法布瑞氏症的方法，所述方法包括測量來自所述受試者的樣品中的CD63水準。

【請求項11】 如請求項10所述的方法，其中由於出現以下情況中的一或多種，所述受試者疑似有風險患上法布瑞氏症：法布瑞氏症家族史、疲勞、疼痛、晶狀體或角膜混濁、渦狀角膜病變、血管角化瘤、呼吸短促、心悸、水腫、腎臟疾病、心肌功能障礙、傳導異常伴PR間期縮短、心律不整、眩暈、頭痛、複視、構音障礙、單側共濟不能、暫時性腦缺血、早發性中風和癡呆。

【請求項12】 如請求項10或請求項11所述的方法，其中如果在來自所述受試者的樣品中測量的CD63水準大於對照值，則所述受試者被診斷為患有法布瑞氏症，其中所述對照值被測量為從一或多個健康受試者取得的樣品中的CD63水準。

【請求項13】 如請求項12所述的方法，其中如果在來自所述受試者的樣品中測量的CD63水準比所述對照值高至少約100%，則所述受試者被診斷為患有法布瑞氏症。

【請求項14】 一種用於生成受試者的定量資料的方法，其中所述方法包括（例如，由以下組成）確定來自所述受試者的樣品中的CD63水準，其中所述受

試者患有法布瑞氏症或疑似患有法布瑞氏症。

【請求項15】 CD63作為生物標記物在診斷疑似有風險患上法布瑞氏症的受試者的法布瑞氏症中的用途。

【請求項16】 CD63作為生物標記物以改善診斷受試者的法布瑞氏症的方法的用途，視情況地其中CD63與GL3、lyso-GL3和/或 α -Gal活性一起用作生物標記物。

【請求項17】 一種治療藉由如請求項10至13中任一項所述的方法已經被診斷為患有法布瑞氏症的受試者的方法，所述治療包括向所述受試者投予針對法布瑞氏症的一或多種治療性治療。

【請求項18】 一種治療有需要的患者的法布瑞氏症的方法，其中所述患者具有高於正常的血漿CD63水準，所述方法包括向所述受試者投予有效量的針對法布瑞氏症的治療性治療。

【請求項19】 一種用於生成受試者的定量資料的方法，其中所述方法包括：

(a) 確定來自所述受試者的樣品中的CD63水準；

(b) 確定CD63的水準是否大於對照值，其中所述對照值被測量為從一或多個健康受試者取得的樣品中的CD63水準；以及

(c) 如果所述樣品中的CD63水準大於所述對照值，則對所述受試者施用針對法布瑞氏症的一或多種治療性治療。

【請求項20】 如請求項17至19中任一項所述的方法，其中所述一或多種治療性治療包括（例如，由以下組成）受質減少療法、伴護蛋白療法、酶替代療法和/或基因療法。

【請求項21】 如請求項20所述的方法，其中所述治療包括向所述受試者投予

文魯司他 (venglustat) 或米加司他 (migalastat) ，例如文魯司他。

【請求項22】 如請求項20或21所述的方法，其中所述治療包括向所述受試者投予重組 α -半乳糖苷酶，例如阿加糖酶 β (agalsidase beta) 。

【請求項23】 一種用於治療受試者的法布瑞氏症的治療劑，其中所述受試者係藉由如請求項10至13中任一項所述的方法已經被診斷為患有法布瑞氏症。

【請求項24】 如請求項23所述的方法，其中所述治療劑是如請求項20至22中任一項所述的治療性治療。

【請求項25】 一種用於監測被診斷為患有法布瑞氏症的受試者的法布瑞氏症的進展的方法，所述方法包括：

(a) 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；

(b) 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中所述第二樣品是在從所述受試者取得所述第一樣品之後從所述受試者取得的；

(c) 比較所述第一樣品中的CD63水準與所述第二樣品中的CD63水準；以及

(d) 如果所述第二樣品中的CD63水準大於所述第一樣品中的CD63水準，則確定所述受試者的法布瑞氏症變得更加嚴重，如果所述第二樣品中的CD63水準與所述第一樣品中的CD63水準基本上相同，則確定所述受試者的法布瑞氏症沒有進展，並且如果所述第二樣品中的CD63水準低於所述第一樣品中的CD63水準，則確定所述受試者的法布瑞氏症變得不那麼嚴重。

【請求項26】 一種用於生成被診斷為患有法布瑞氏症的受試者的定量資料的方法，所述方法包括以下步驟：

(a) 確定來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；

(b) 確定來自所述受試者的後續樣品中的CD63水準；以及

(c) 將步驟 (a) 中確定的CD63水準與步驟 (b) 中確定的水準進行比較。

【請求項27】 如請求項25或請求項26所述的方法，其中所述樣品是血液樣品，例如血漿樣品。

【請求項28】 一種用於監測被診斷為患有法布瑞氏症的受試者的針對法布瑞氏症的治療進展的方法，所述方法包括：

(a) 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；

(b) 向所述受試者投予針對法布瑞氏症的治療性治療；

(c) 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中所述第二樣品是在投予所述治療性治療之後從所述受試者取得的；以及

(d) 如果所述第二樣品中的CD63水準低於所述第一樣品中的CD63水準，則確定所述治療成功。

【請求項29】 一種治療或預防被評估為有風險患上法布瑞氏症的受試者的法布瑞氏症的發展或進展的方法，所述方法包括以下步驟：

(a) 從所述受試者中取得第一生物樣品，並且分析所述樣品的CD63濃度；

(b) 如果所述CD63濃度高於對照值，則開始對所述受試者進行針對法布瑞氏症的治療性治療過程，並且視情況地：

(c) 在治療所述受試者之後，從所述受試者取得第二生物樣品，並且分析所述樣品的CD63濃度以確定CD63水準的變化；以及

(d) 基於觀察到的CD63水準的變化調整所述治療性治療。

【請求項30】 一種用於調整接受針對法布瑞氏症的治療性治療的受試者的所述治療性治療的劑量的方法，所述方法包括：

(a) 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；

(b) 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中所述第二樣品是在投予一或多個劑量的所述治療性治療之後從所述受試者取得的；以及

(c) 基於所述第一樣品中的CD63水準與所述第二樣品中的CD63水準之間的差異來調整所述治療性治療的劑量。

【請求項31】 一種用於生成患有法布瑞氏症的受試者的定量資料的方法，所述方法包括以下步驟：

(a) 確定來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；

(b) 在向所述受試者投予針對法布瑞氏症的治療性治療後，確定來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準。

【請求項32】 如請求項31所述的方法，其中如果步驟 (b) 中確定的CD63水準與步驟 (a) 中確定的CD63水準基本上相同或大於步驟 (a) 中確定的CD63水準，則將增加所述治療性治療的劑量。

【請求項33】 如請求項28至32中任一項所述的方法，其中所述治療性治療包括（例如，由以下組成）受質減少療法、伴護蛋白療法、酶替代療法和/或基因療法。

【請求項34】 如請求項33所述的方法，其中所述治療包括向所述受試者投予文魯司他或米加司他，例如文魯司他。

【請求項35】 如請求項33所述的方法，其中所述治療包括向所述受試者投予重組 α -半乳糖苷酶，例如阿加糖酶 β 。

【請求項36】 如請求項25至35中任一項所述的方法，其中在開始所述治療性治療後至少8週，從所述受試者取得所述第二或後續樣品。

【請求項37】 一種CD63作為生物標記物之用途，其用於監測被診斷為患有

法布瑞氏症的受試者的法布瑞氏症的進展、或者用於監測針對法布瑞氏症的治療進展、或者用於調整被診斷為患有法布瑞氏症的受試者的針對法布瑞氏症的治療性治療的劑量。

【請求項38】 一種診斷疑似有風險患上高雪氏症的受試者的高雪氏症的方法，所述方法包括測量來自所述受試者的樣品中的CD63水準。

【請求項39】 如請求項38所述的方法，其中由於出現以下情況中的一或多種，所述受試者疑似有風險患上高雪氏症：高雪氏症家族史、肝腫大和脾腫大、疼痛、骨質疏鬆症、皮膚色素沉著、全部血球減少症、神經系統症狀和帕金森氏症。

【請求項40】 如請求項38或請求項39所述的方法，其中如果在來自所述受試者的樣品中測量的CD63水準大於對照值，則所述受試者被診斷為患有高雪氏症，其中所述對照值被測量為從一或多個健康受試者取得的樣品中的CD63水準。

【請求項41】 如請求項40所述的方法，其中如果在來自所述受試者的樣品中測量的CD63水準比所述對照值高至少約100%，則所述受試者被診斷為患有高雪氏症。

【請求項42】 一種用於生成受試者的定量資料的方法，其中所述方法包括（例如，由以下組成）確定來自所述受試者的樣品中的CD63水準，其中所述受試者患有高雪氏症或疑似患有高雪氏症。

【請求項43】 CD63作為生物標記物在診斷疑似有風險患上高雪氏症的受試者的高雪氏症中的用途。

【請求項44】 CD63作為生物標記物以改善診斷受試者的高雪氏症的方法的用途，視情況地其中CD63與GL1、lyso-GL1和/或β-葡萄糖苷酶（GC酶）活性一

起用作生物標記物。

【請求項45】 一種治療藉由如請求項38至41中任一項所述的方法已經被診斷為患有高雪氏症的受試者的方法，所述治療包括向所述受試者投予針對高雪氏症的一或多種治療性治療。

【請求項46】 一種治療有需要的患者的高雪氏症的方法，其中所述患者具有高於正常的血漿CD63水準，所述方法包括向所述受試者投予有效量的針對高雪氏症的治療性治療。

【請求項47】 一種用於生成受試者的定量資料的方法，其中所述方法包括：

(a) 確定來自所述受試者的樣品中的CD63水準；

(b) 確定CD63的水準是否大於對照值，其中所述對照值被測量為從一或多個健康受試者取得的樣品中的CD63水準；以及

(c) 如果所述樣品中的CD63水準大於所述對照值，則對所述受試者施用針對高雪氏症的一或多種治療性治療。

【請求項48】 如請求項45至47中任一項所述的方法，其中所述一或多種治療性治療包括（例如，由以下組成）受質減少療法、伴護蛋白療法、酶替代療法和/或基因療法。

【請求項49】 如請求項48所述的方法，其中所述治療包括向所述受試者投予文魯司他、依魯司他（eliglustat）或米格魯他（miglustat）。

【請求項50】 如請求項48或49所述的方法，其中所述治療包括向所述受試者投予重組葡萄糖腦苷脂酶，例如伊米昔酶（imiglucerase）。

【請求項51】 一種用於治療受試者的高雪氏症的治療劑，其中所述受試者已經通過如請求項38至41中任一項所述的方法被診斷為患有高雪氏症。

【請求項52】 如請求項51所述的方法，其中所述治療劑是如請求項48至50中任一項所述的治療性治療。

【請求項53】 一種用於監測被診斷為患有高雪氏症的受試者的高雪氏症的進展的方法，所述方法包括：

- (a) 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；
- (b) 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中所述第二樣品是在從所述受試者取得所述第一樣品之後從所述受試者取得的；
- (c) 比較所述第一樣品中的CD63水準與所述第二樣品中的CD63水準；以及
- (d) 如果所述第二樣品中的CD63水準大於所述第一樣品中的CD63水準，則確定所述受試者的高雪氏症變得更加嚴重，如果所述第二樣品中的CD63水準與所述第一樣品中的CD63水準基本上相同，則確定所述受試者的高雪氏症沒有進展，並且如果所述第二樣品中的CD63水準低於所述第一樣品中的CD63水準，則確定所述受試者的高雪氏症變得不那麼嚴重。

【請求項54】 一種用於生成被診斷為患有高雪氏症的受試者的定量資料的方法，所述方法包括以下步驟：

- (a) 確定來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；
- (b) 確定來自所述受試者的後續樣品中的CD63水準；以及
- (c) 將步驟 (a) 中確定的CD63水準與步驟 (b) 中確定的水準進行比較。

【請求項55】 如請求項53或請求項54所述的方法，其中所述樣品是血液樣品，例如血漿樣品。

【請求項56】 一種用於監測被診斷為患有高雪氏症的受試者的針對高雪氏症的治療進展的方法，所述方法包括：

- (a) 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；
- (b) 向所述受試者投予針對高雪氏症的治療性治療；
- (c) 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中所述第二樣品是在投予所述治療性治療之後從所述受試者取得的；以及
- (d) 如果所述第二樣品中的CD63水準低於所述第一樣品中的CD63水準，則確定所述治療成功。

【請求項57】 一種治療或預防被評估為有風險患上高雪氏症的受試者的高雪氏症的發展或進展的方法，所述方法包括以下步驟：

- (a) 從所述受試者中取得第一生物樣品，並且分析所述樣品的CD63濃度；
- (b) 如果所述CD63濃度高於對照值，則開始對所述受試者進行針對高雪氏症的治療性治療過程，並且視情況地：
- (c) 在治療所述受試者之後，從所述受試者取得第二生物樣品，並且分析所述樣品的CD63濃度以確定CD63水準的變化；以及
- (d) 基於觀察到的CD63水準的變化調整所述治療性治療。

【請求項58】 一種用於調整接受針對高雪氏症的治療性治療的受試者的所述治療性治療的劑量的方法，所述方法包括：

- (a) 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；
- (b) 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中所述第二樣品是在投予一或多個劑量的所述治療性治療之後從所述受試者取得的；以及
- (c) 基於所述第一樣品中的CD63水準與所述第二樣品中的CD63水準之間的差異來調整所述治療性治療的劑量。

【請求項59】 一種用於生成患有高雪氏症的受試者的定量資料的方法，所述

方法包括以下步驟：

(a) 確定來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；

(b) 在向所述受試者投予針對高雪氏症的治療性治療後，確定來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準。

【請求項60】 如請求項59所述的方法，其中如果步驟 (b) 中確定的CD63水準與步驟 (a) 中確定的CD63水準基本上相同或大於步驟 (a) 中確定的CD63水準，則將增加所述治療性治療的劑量。

【請求項61】 如請求項56至60中任一項所述的方法，其中所述治療性治療包括（例如，由以下組成）受質減少療法、伴護蛋白療法、酶替代療法或基因療法。

【請求項62】 如請求項61所述的方法，其中所述治療包括向所述受試者投予文魯司他、依魯司他或米格魯他。

【請求項63】 如請求項61所述的方法，其中所述治療包括向所述受試者投予重組葡萄糖腦苷脂酶，例如伊米苷酶。

【請求項64】 如請求項53至63中任一項所述的方法，其中在開始所述治療性治療後至少8週，從所述受試者取得所述第二或後續樣品。

【請求項65】 一種CD63作為生物標記物之用途，其用於監測被診斷為患有高雪氏症的受試者的高雪氏症的進展、或者用於監測針對高雪氏症的治療進展、或者用於調整被診斷為患有高雪氏症的受試者的針對高雪氏症的治療性治療的劑量。

【請求項66】 一種診斷疑似有風險患上MPS的受試者的MPS的方法，所述方法包括測量來自所述受試者的樣品中的CD63水準。

【請求項67】 如請求項66所述的方法，其中由於出現以下情況中的一或多種，所述受試者疑似有風險患上MPS：MPS家族史、巨頭畸形、聽力損失、角膜混濁、異常牙列、僵硬、髖關節發育不良（hip dysplasia）、爪形手、關節鬆弛、瓣膜增厚、左心室肥大、復發性呼吸道感染、阻塞性呼吸道疾病、肝腫大/脾腫大、臍疝/腹股溝疝、發展遲緩、腦室擴大、血管周圍間隙擴大、過度活躍或攻擊行為、白細胞顆粒異常、胎兒水腫、和蛋白尿。

【請求項68】 如請求項66或請求項67所述的方法，其中如果在來自所述受試者的樣品中測量的CD63水準大於對照值，則所述受試者被診斷為患有MPS，其中所述對照值被測量為從一或多個健康受試者取得的樣品中的CD63水準。

【請求項69】 如請求項68所述的方法，其中如果在來自所述受試者的樣品中測量的CD63水準比所述對照值高至少約100%，則所述受試者被診斷為患有MPS。

【請求項70】 一種用於生成受試者的定量資料的方法，其中所述方法包括（例如，由以下組成）確定來自所述受試者的樣品中的CD63水準，其中所述受試者患有MPS或疑似患有MPS。

【請求項71】 CD63作為生物標記物在診斷疑似有風險患上MPS的受試者的MPS中的用途。

【請求項72】 CD63作為生物標記物以改善診斷受試者的MPS的方法的用途，視情況地其中CD63與一或多種糖胺聚糖（GAG）或聚糖一起用作生物標記物。

【請求項73】 一種治療通過如請求項10至13中任一項所述的方法已經被診斷為患有MPS的受試者的方法，所述治療包括向所述受試者投予針對MPS的一或多種治療性治療。

【請求項74】 一種治療有需要的患者的MPS的方法，其中所述患者具有高於正常的血漿CD63水準，所述方法包括向所述受試者投予有效量的針對MPS的治療性治療。

【請求項75】 一種用於生成受試者的定量資料的方法，其中所述方法包括：

(a) 確定來自所述受試者的樣品中的CD63水準；

(b) 確定CD63的水準是否大於對照值，其中所述對照值被測量為從一或多個健康受試者取得的樣品中的CD63水準；以及

(c) 如果所述樣品中的CD63水準大於所述對照值，則對所述受試者施用針對MPS的一或多種治療性治療。

【請求項76】 如請求項73至75中任一項所述的方法，其中所述一或多種治療性治療包括（例如，由以下組成）酶替代療法、基因療法和/或造血幹細胞移植。

【請求項77】 如請求項76所述的方法，其中所述治療包括（例如，由以下組成）用 α -L-艾杜糖醛酸酶（ α -L-iduronidase）、艾杜糖醛酸酶-2-硫酸酯酶（iduronidase-2-sulfatase）或乙醯肝素-N-硫酸酯酶（heparan-N-sulfatase）的酶替代療法。

【請求項78】 一種用於治療受試者的MPS的治療劑，其中所述受試者已經通過如請求項66至69中任一項所述的方法被診斷為患有MPS。

【請求項79】 如請求項78所述的方法，其中所述治療劑是如請求項76或請求項77所述的治療性治療。

【請求項80】 一種用於監測被診斷為患有MPS的受試者的MPS的進展的方法，所述方法包括：

(a) 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；

(b) 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中所述第二樣品是在從所述受試者取得所述第一樣品之後從所述受試者取得的；

(c) 比較所述第一樣品中的CD63水準與所述第二樣品中的CD63水準；以及

(d) 如果所述第二樣品中的CD63水準大於所述第一樣品中的CD63水準，則確定所述受試者的MPS變得更加嚴重，如果所述第二樣品中的CD63水準與所述第一樣品中的CD63水準基本上相同，則確定所述受試者的MPS沒有進展，並且如果所述第二樣品中的CD63水準低於所述第一樣品中的CD63水準，則確定所述受試者的MPS變得不那麼嚴重。

【請求項81】 一種用於生成被診斷為患有MPS的受試者的定量資料的方法，所述方法包括以下步驟：

(a) 確定來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；

(b) 確定來自所述受試者的後續樣品中的CD63水準；以及

(c) 將步驟 (a) 中確定的CD63水準與步驟 (b) 中確定的水準進行比較。

【請求項82】 如請求項80或請求項81所述的方法，其中所述樣品是血液樣品，例如血漿樣品。

【請求項83】 一種用於監測被診斷為患有MPS的受試者的針對MPS的治療進展的方法，所述方法包括：

(a) 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；

(b) 向所述受試者投予針對MPS的治療性治療；

(c) 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中所述第二樣品是在投予所述治療性治療之後從所述受試者取得的；以及

(d) 如果所述第二樣品中的CD63水準低於所述第一樣品中的CD63水準，則

確定所述治療成功。

【請求項84】 一種治療或預防被評估為有風險患上MPS的受試者的MPS的發展或進展的方法，所述方法包括以下步驟：

(a) 從所述受試者中取得第一生物樣品，並且分析所述樣品的CD63濃度；

(b) 如果所述CD63濃度高於對照值，則開始對所述受試者進行針對MPS的治療性治療過程，並且視情況地：

(c) 在治療所述受試者之後，從所述受試者取得第二生物樣品，並且分析所述樣品的CD63濃度以確定CD63水準的變化；以及

(d) 基於觀察到的CD63水準的變化調整所述治療性治療。

【請求項85】 一種用於調整接受針對MPS的治療性治療的受試者的所述治療性治療的劑量的方法，所述方法包括：

(a) 測量來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；

(b) 測量來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準，其中所述第二樣品是在投予一或多個劑量的所述治療性治療之後從所述受試者取得的；以及

(c) 基於所述第一樣品中的CD63水準與所述第二樣品中的CD63水準之間的差異來調整所述治療性治療的劑量。

【請求項86】 一種用於生成患有MPS的受試者的定量資料的方法，所述方法包括以下步驟：

(a) 確定來自所述受試者的第一樣品中的CD63水準；

(b) 在向所述受試者投予針對MPS的治療性治療後，確定來自所述受試者的第二樣品中的CD63水準。

【請求項87】 如請求項86所述的方法，其中如果步驟 (b) 中確定的CD63水準

與步驟 (a) 中確定的CD63水準基本上相同或大於步驟 (a) 中確定的CD63水準，則將增加所述治療性治療的劑量。

【請求項88】 如請求項83至87中任一項所述的方法，其中所述治療性治療包括（例如，由以下組成）酶替代療法、基因療法和/或造血幹細胞移植。

【請求項89】 如請求項88所述的方法，其中所述治療包括（例如，由以下組成）用 α -L-艾杜糖醛酸酶、艾杜糖醛酸酶-2-硫酸酯酶或乙醯肝素-N-硫酸酯酶的酶替代療法。

【請求項90】 如請求項80至89中任一項所述的方法，其中在開始所述治療性治療後至少8週，從所述受試者取得所述第二或後續樣品。

【請求項91】 一種CD63作為生物標記物用於監測被診斷為患有MPS的受試者的MPS的進展、或者用於監測針對MPS的治療進展、或者用於調整被診斷為患有MPS的受試者的針對MPS的治療性治療的劑量的用途。

【請求項92】 一種用於檢測或診斷受試者的特定溶體儲積症的套組，所述套組包含：(a) 用於檢測來自所述受試者的樣品中的CD63的手段（means）；和 (b) 用於檢測來自所述受試者的樣品中的所述溶體儲積症的一或多種生物標記物的手段。

【請求項93】 如請求項92所述的套組，其中所述特定溶體儲積症是法布瑞氏症，並且其中並且所述套組包含：(a) 用於檢測來自所述受試者的樣品中的CD63的手段；和 (b) 用於檢測所述樣品中的法布瑞氏症的一或多種生物標記物的手段（例如，用於檢測所述樣品中的GL3和/或lyso-GL3的手段）。

【請求項94】 如請求項92所述的套組，其中所述特定溶體儲積症是高雪氏症，並且其中並且所述套組包含：(a) 用於檢測來自所述受試者的樣品中的CD63的手

段；和 (b) 用於檢測所述樣品中的高雪氏症的一或多種生物標記物的手段(例如，用於檢測所述樣品中的lyso-GL1的手段)。

【請求項95】 如請求項92所述的套組，其中所述溶體儲積症是MPS，並且所述套組包含：(a) 用於檢測來自所述受試者的樣品中的CD63的手段；和 (b) 用於檢測所述樣品中的MPS的一或多種生物標記物的手段。

【請求項96】 如請求項95所述的套組，其中：(i) 所述溶體儲積症是MPS I，並且所述套組在 (b) 部分中包含用於檢測樣品中的硫酸皮膚素和視情況地還有硫酸乙醯肝素的手段；(ii) 所述溶體儲積症是MPS II，並且所述套組在 (b) 部分中包含用於檢測樣品中的硫酸皮膚素和硫酸乙醯肝素的手段；或 (iii) 所述溶體儲積症是MPS III，並且所述套組在 (b) 部分中包含用於檢測樣品中的硫酸乙醯肝素的手段。

【請求項97】 如請求項92至96中任一項所述的套組，其中所述用於檢測CD63的手段包含至少一種抗CD63抗體。

(發明圖式)

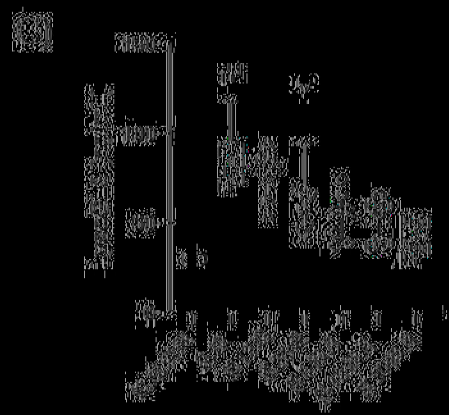
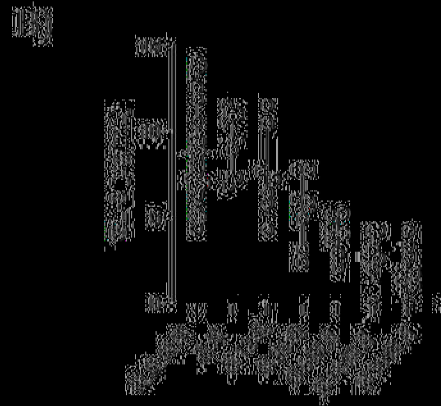
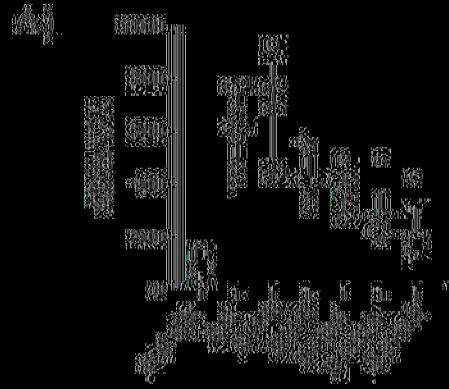


圖1

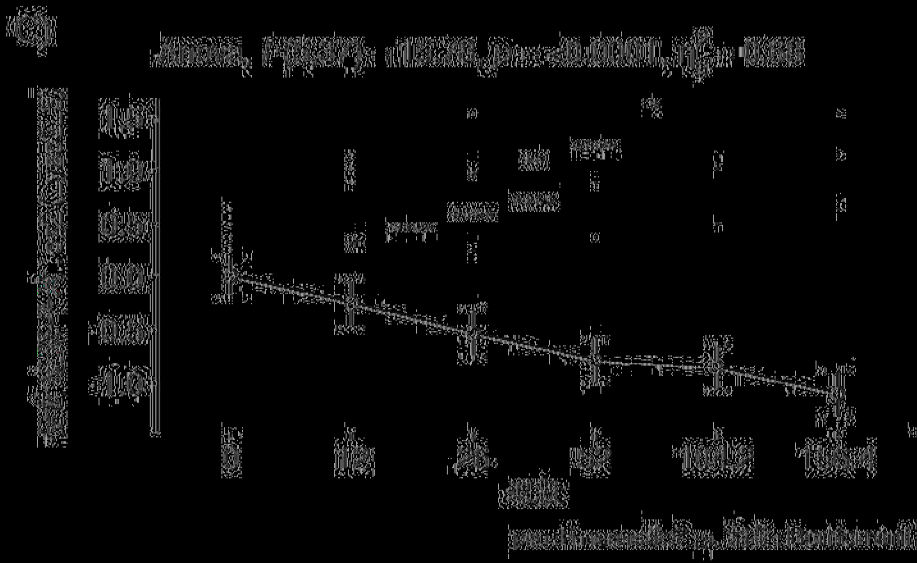
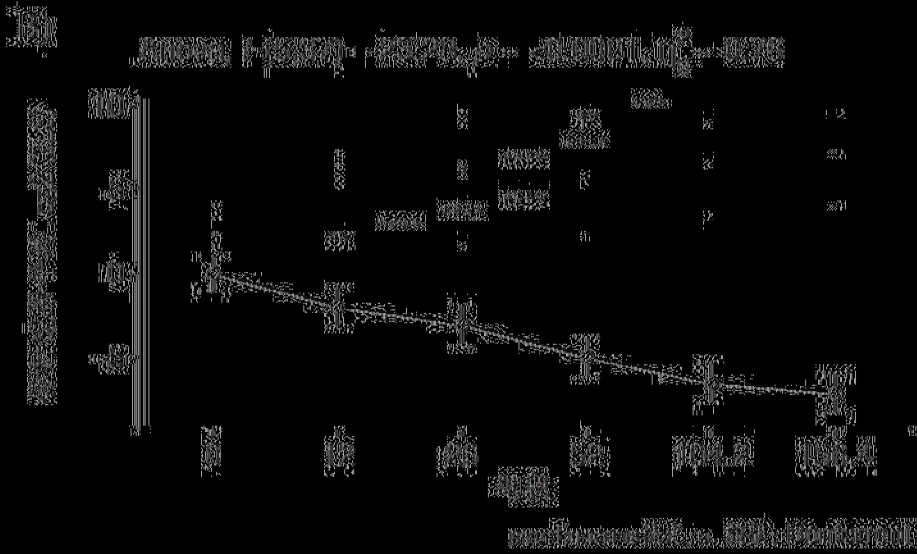
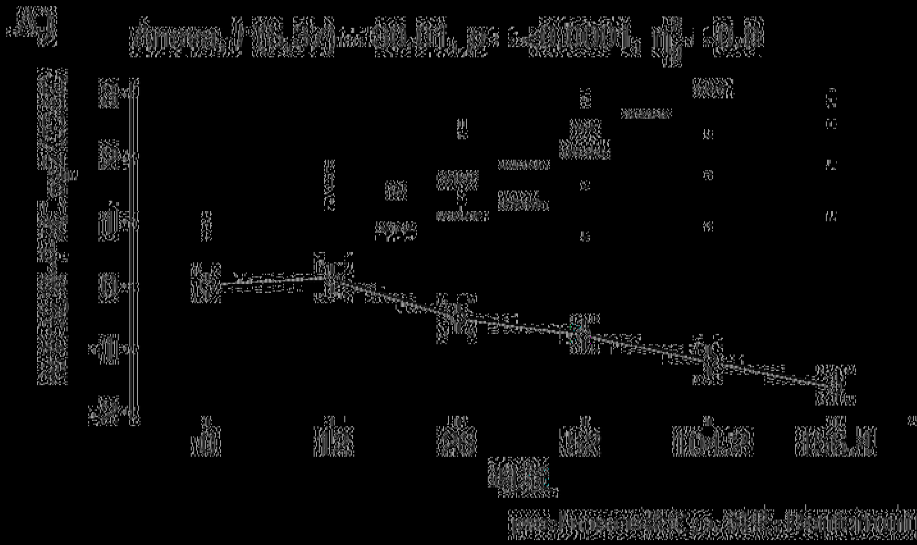
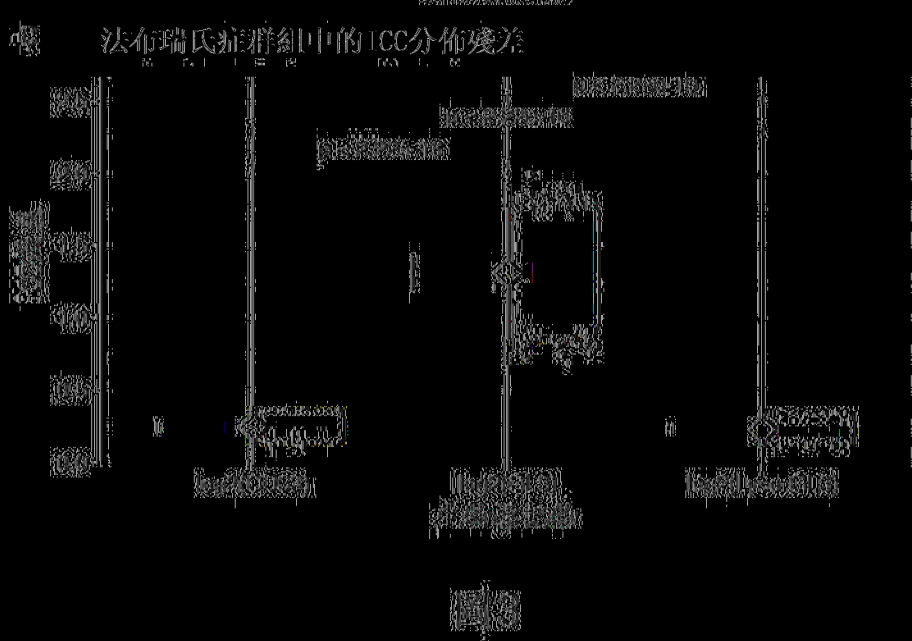
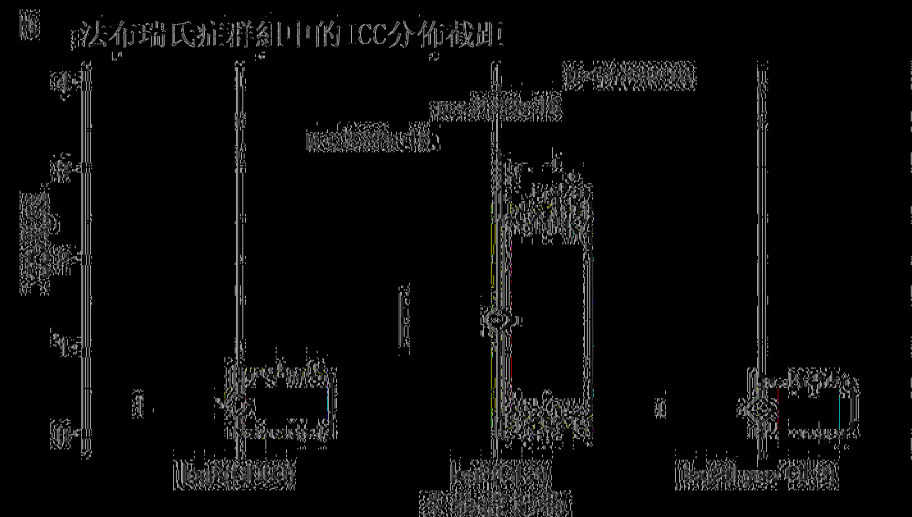
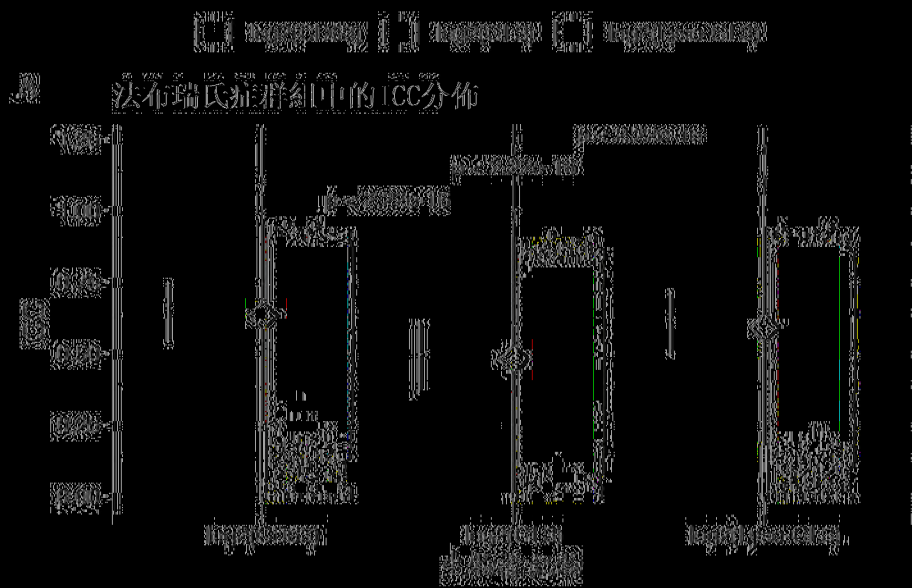
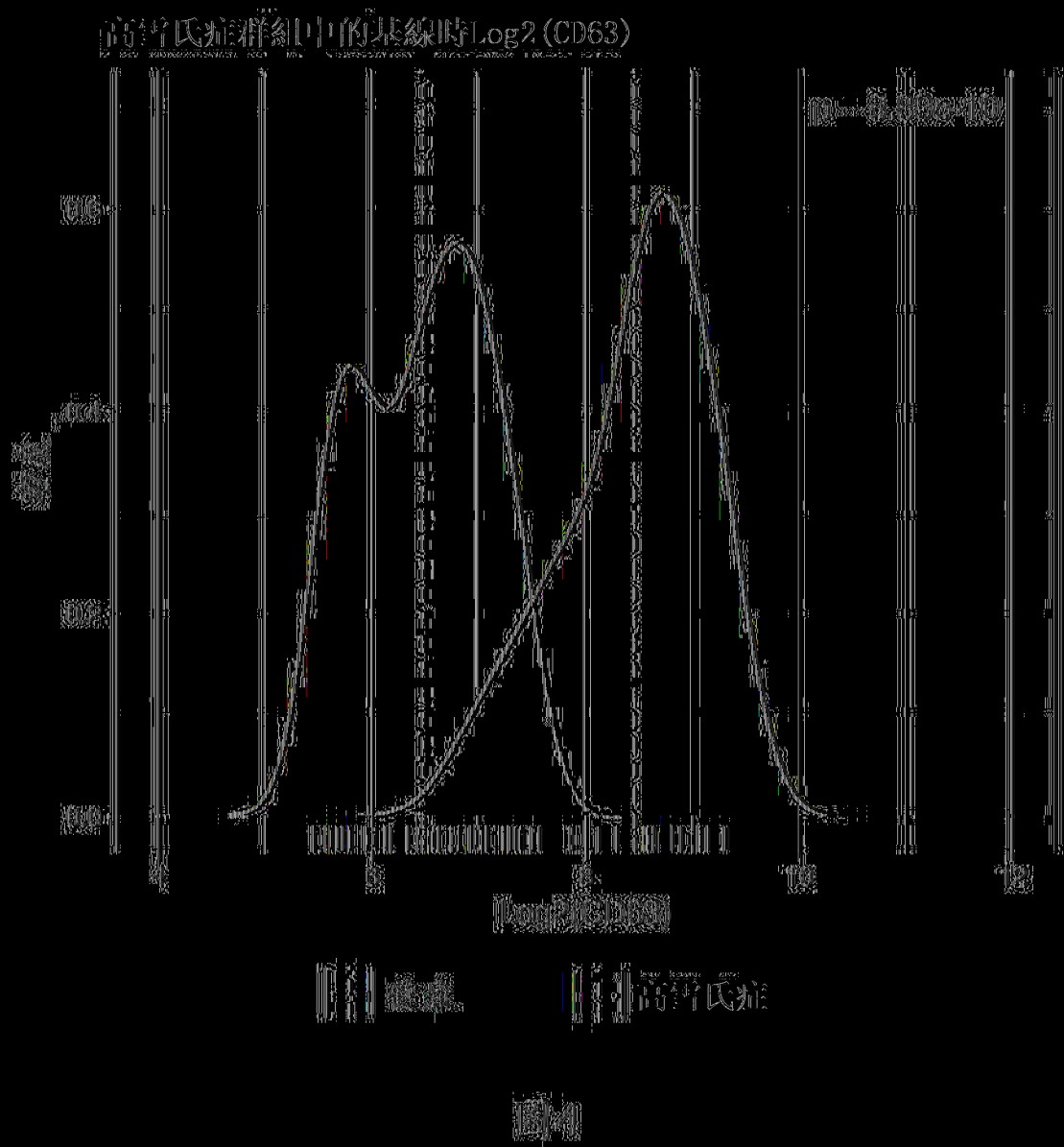
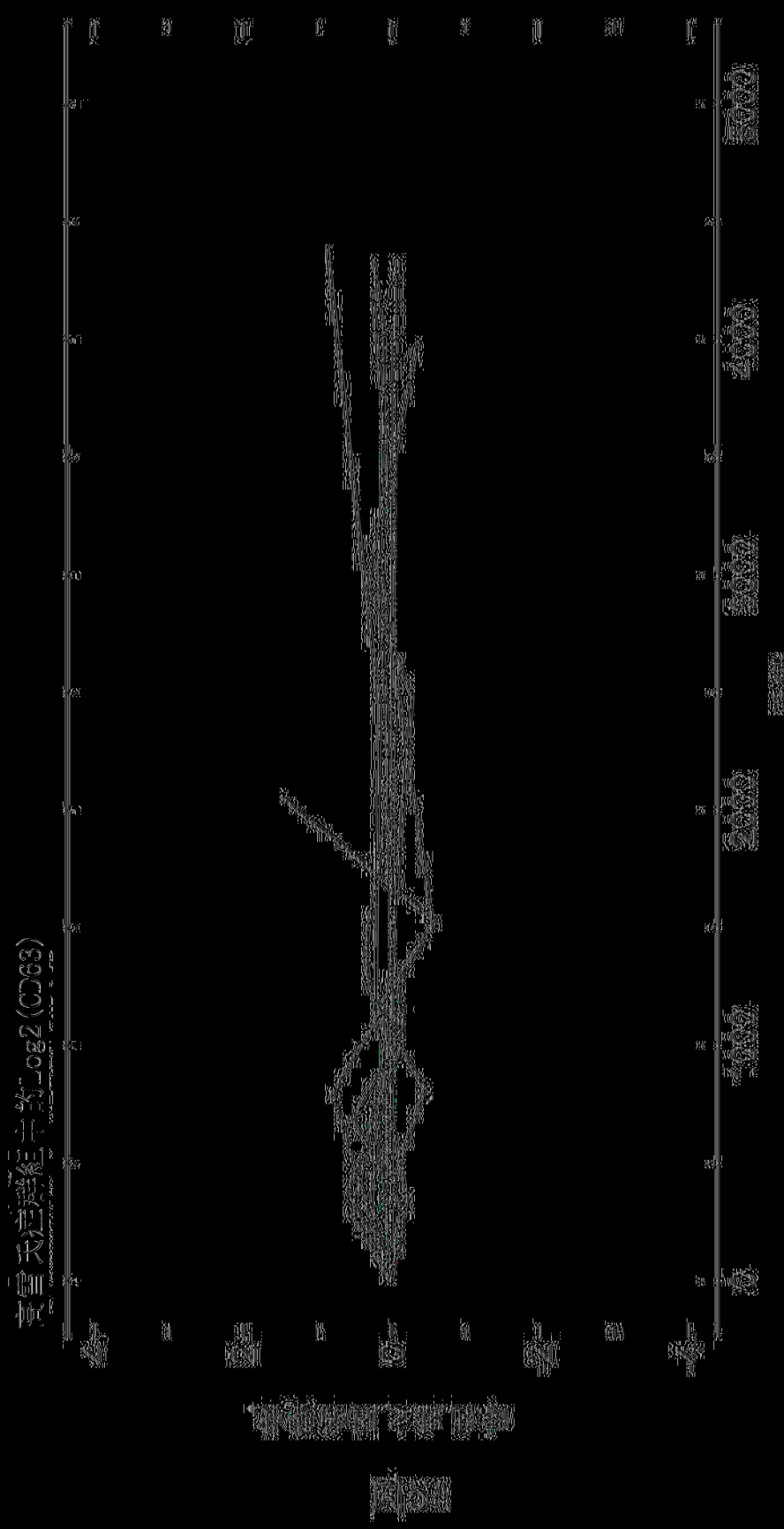
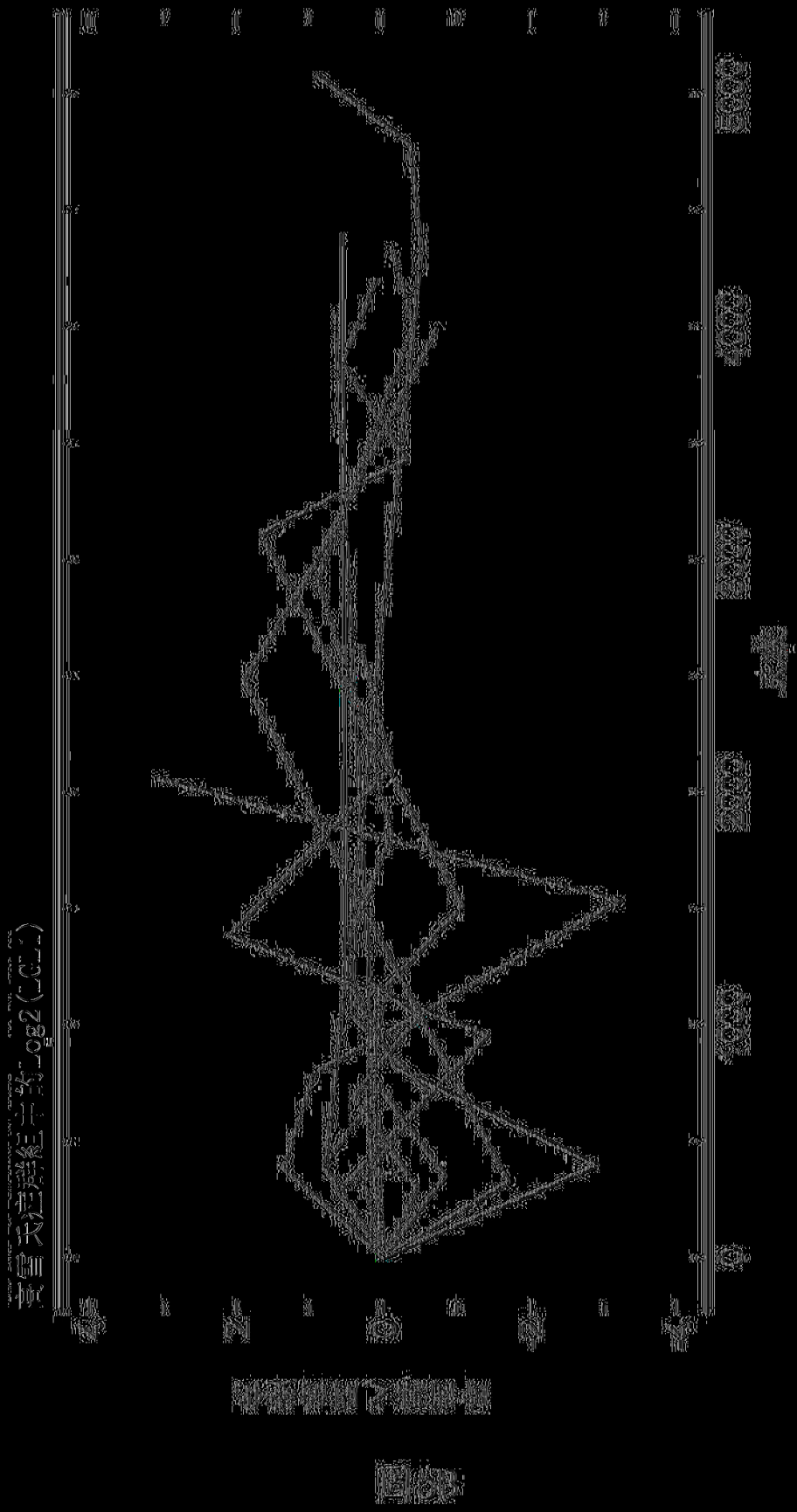


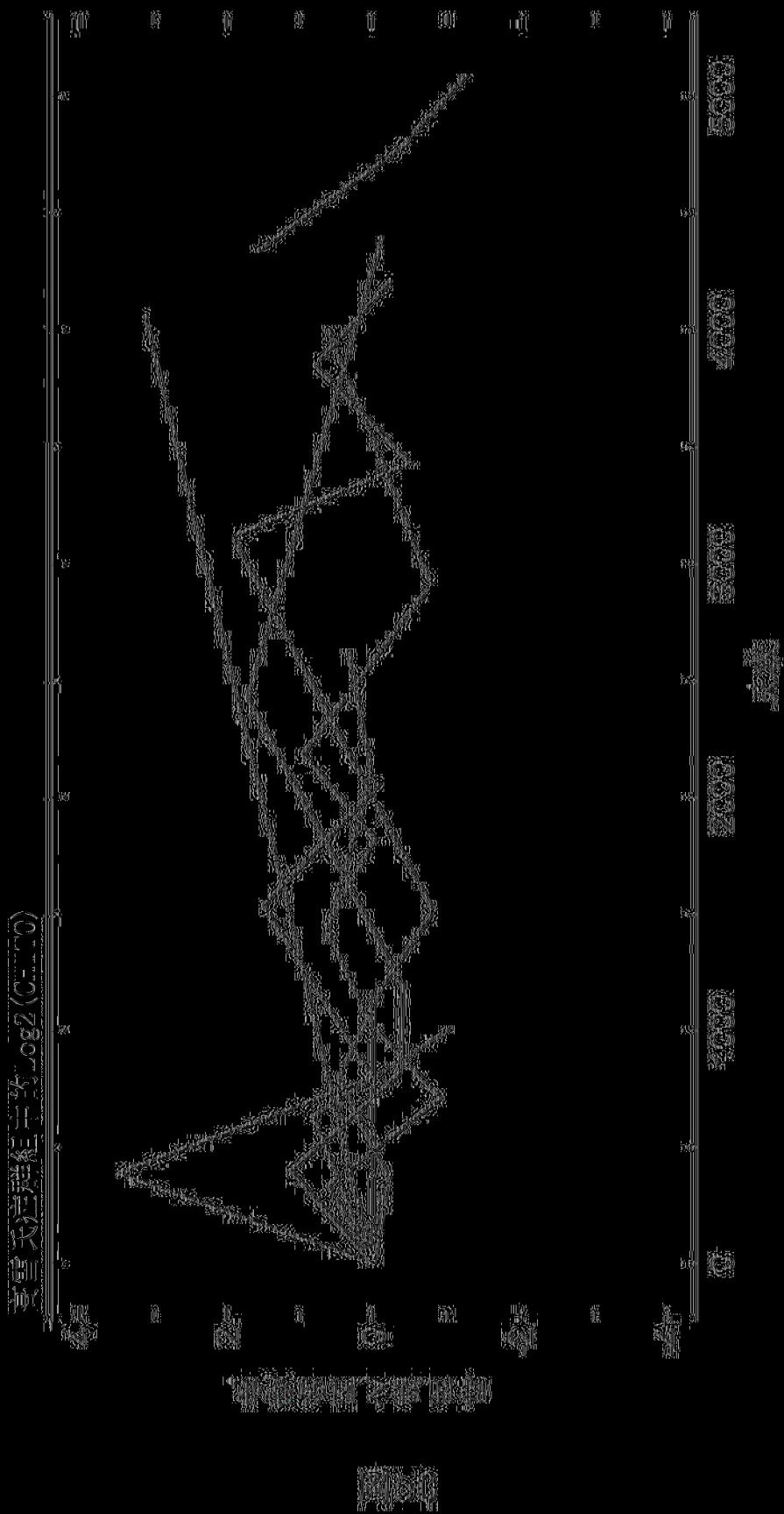
圖 1

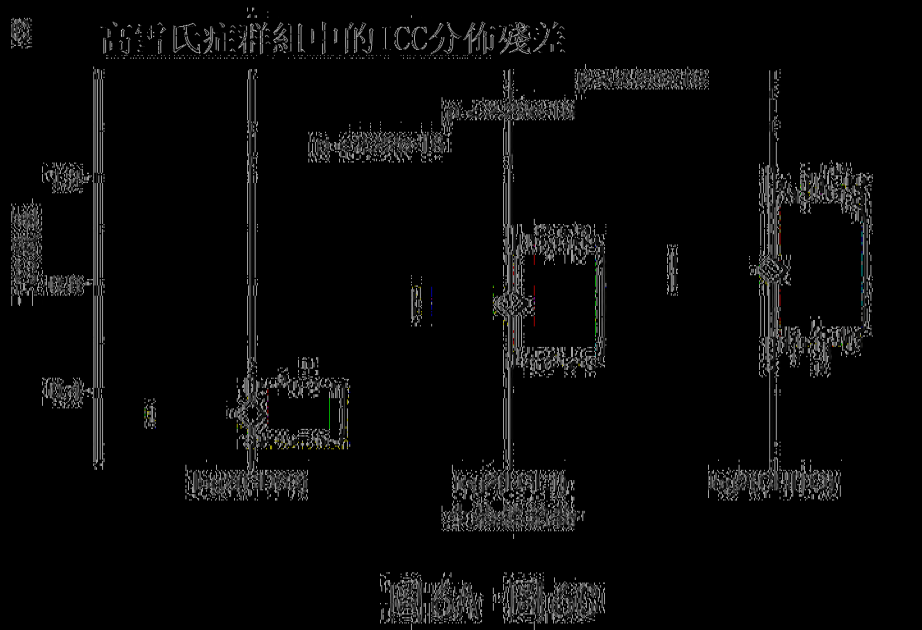
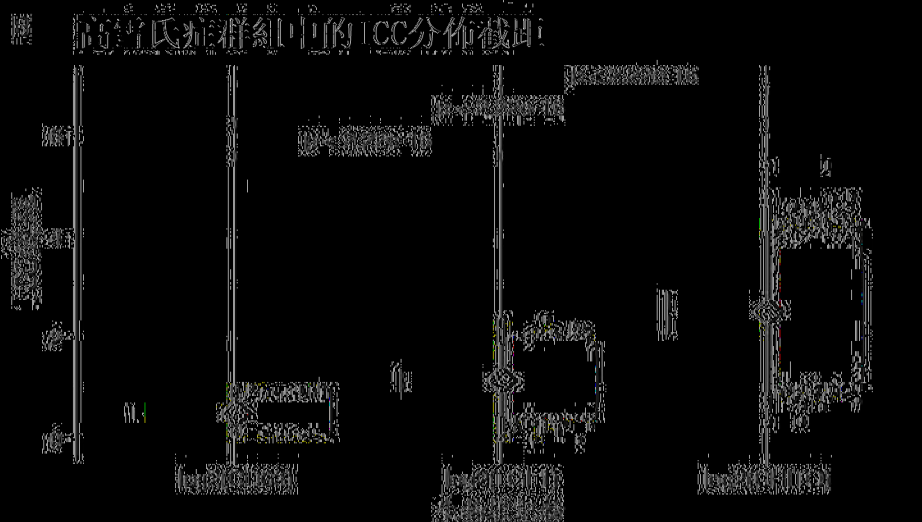
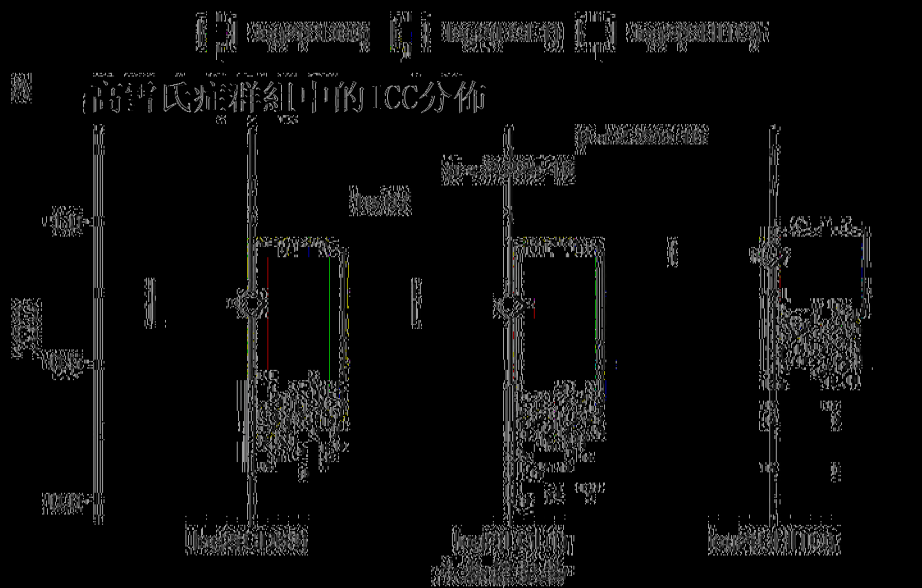












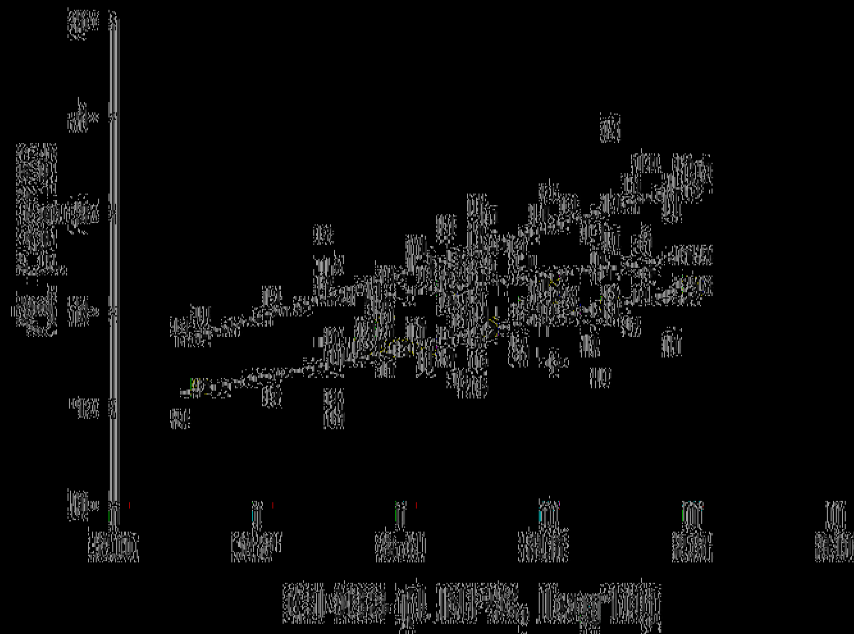
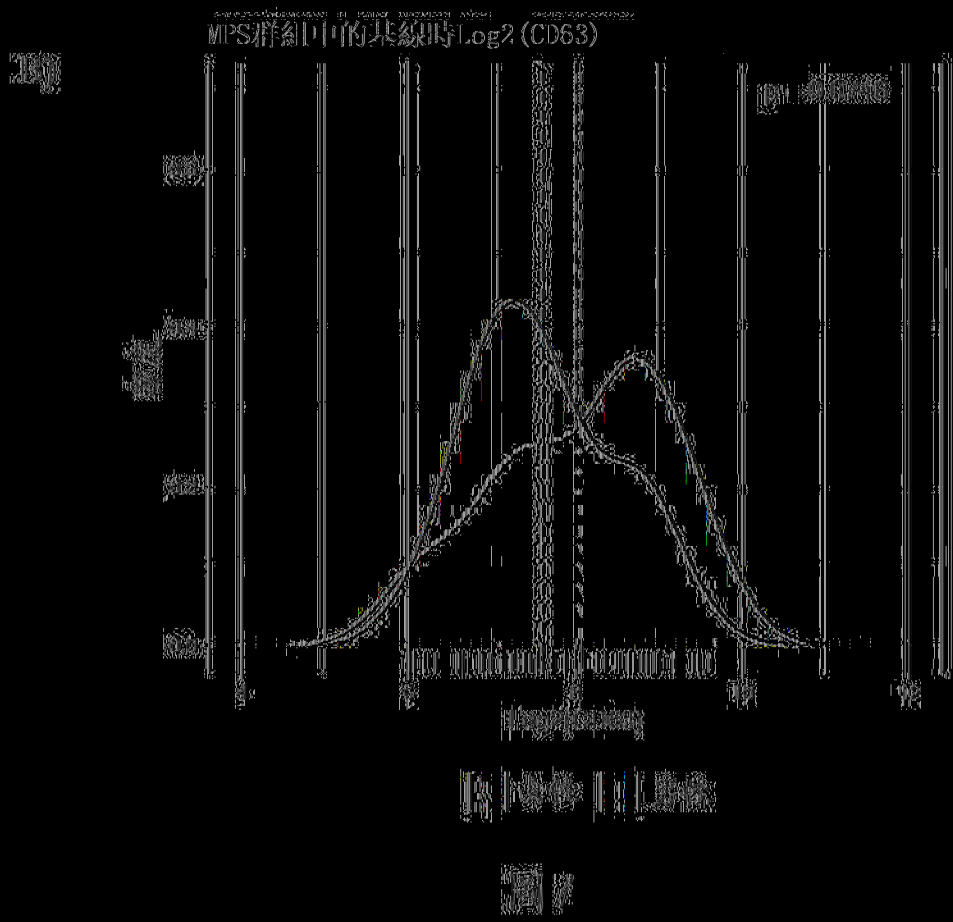
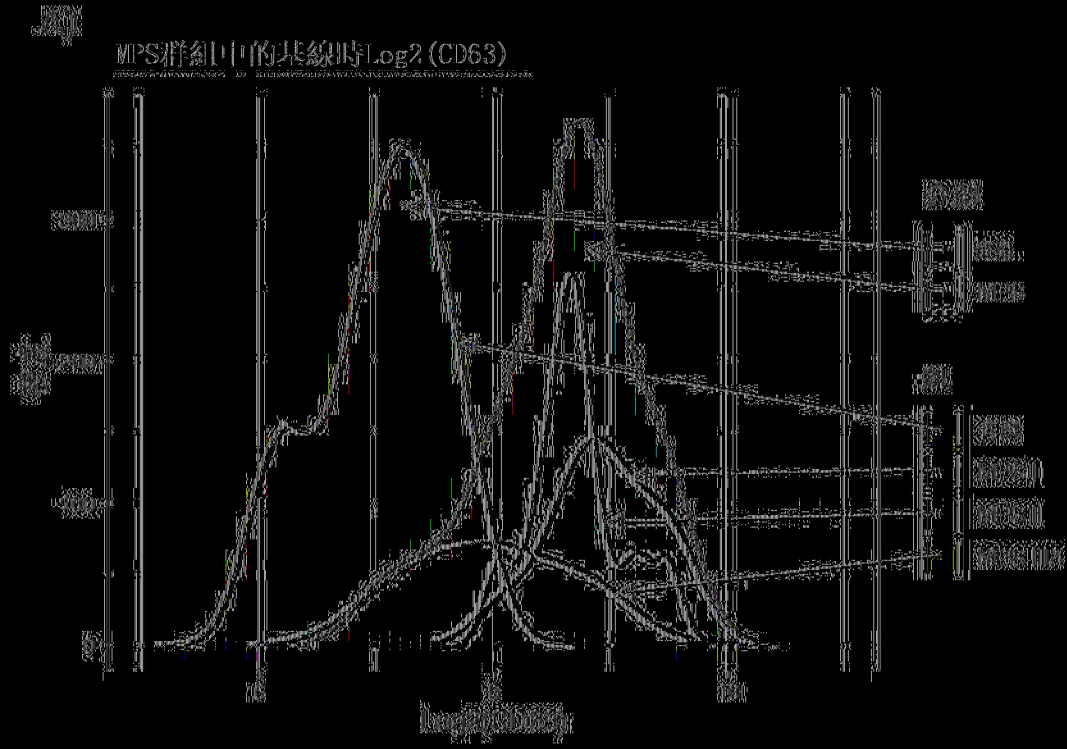
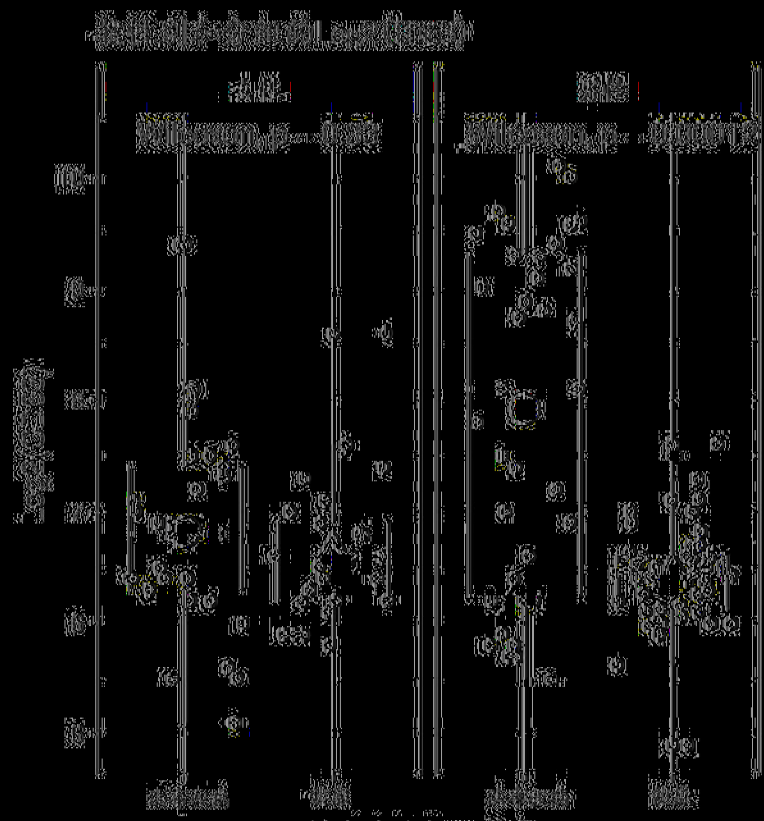


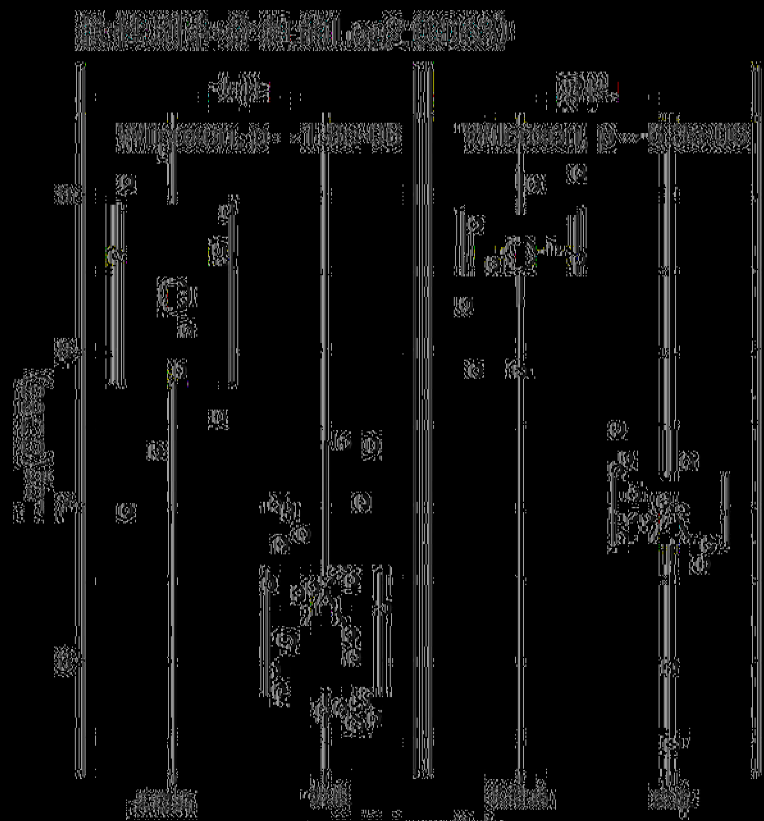
圖 10





法布瑞氏症





高背氏並



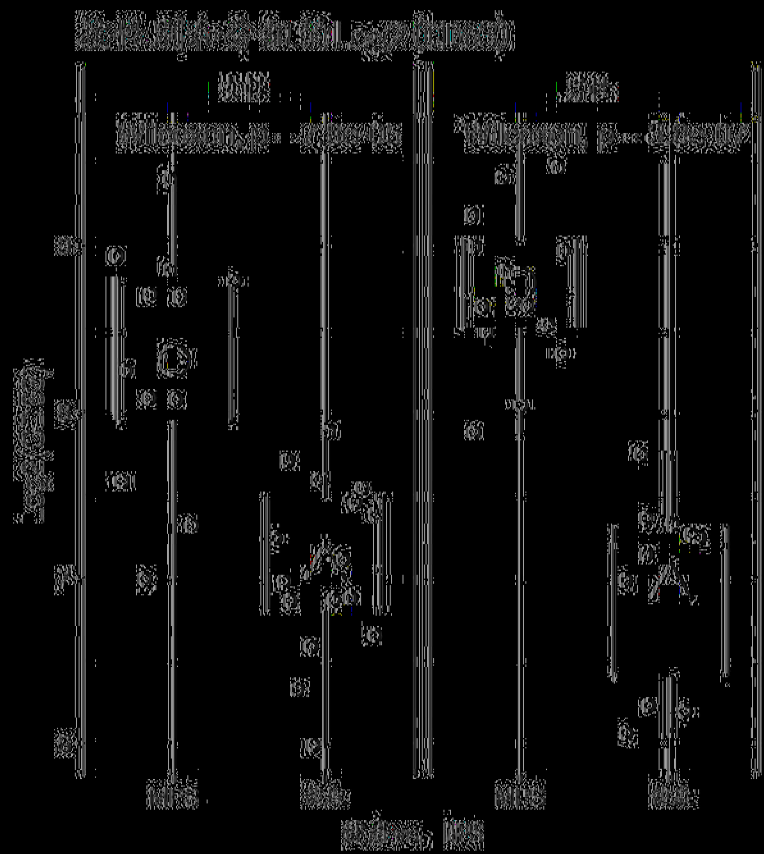
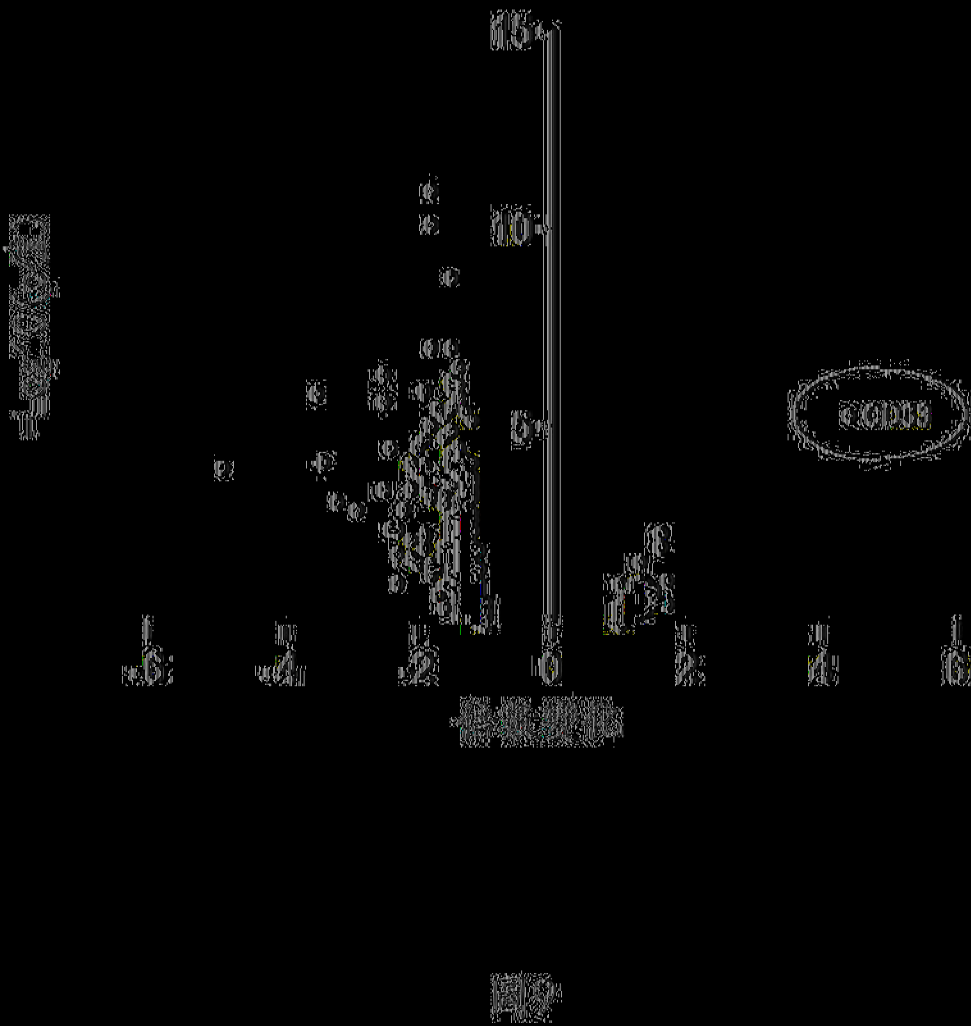
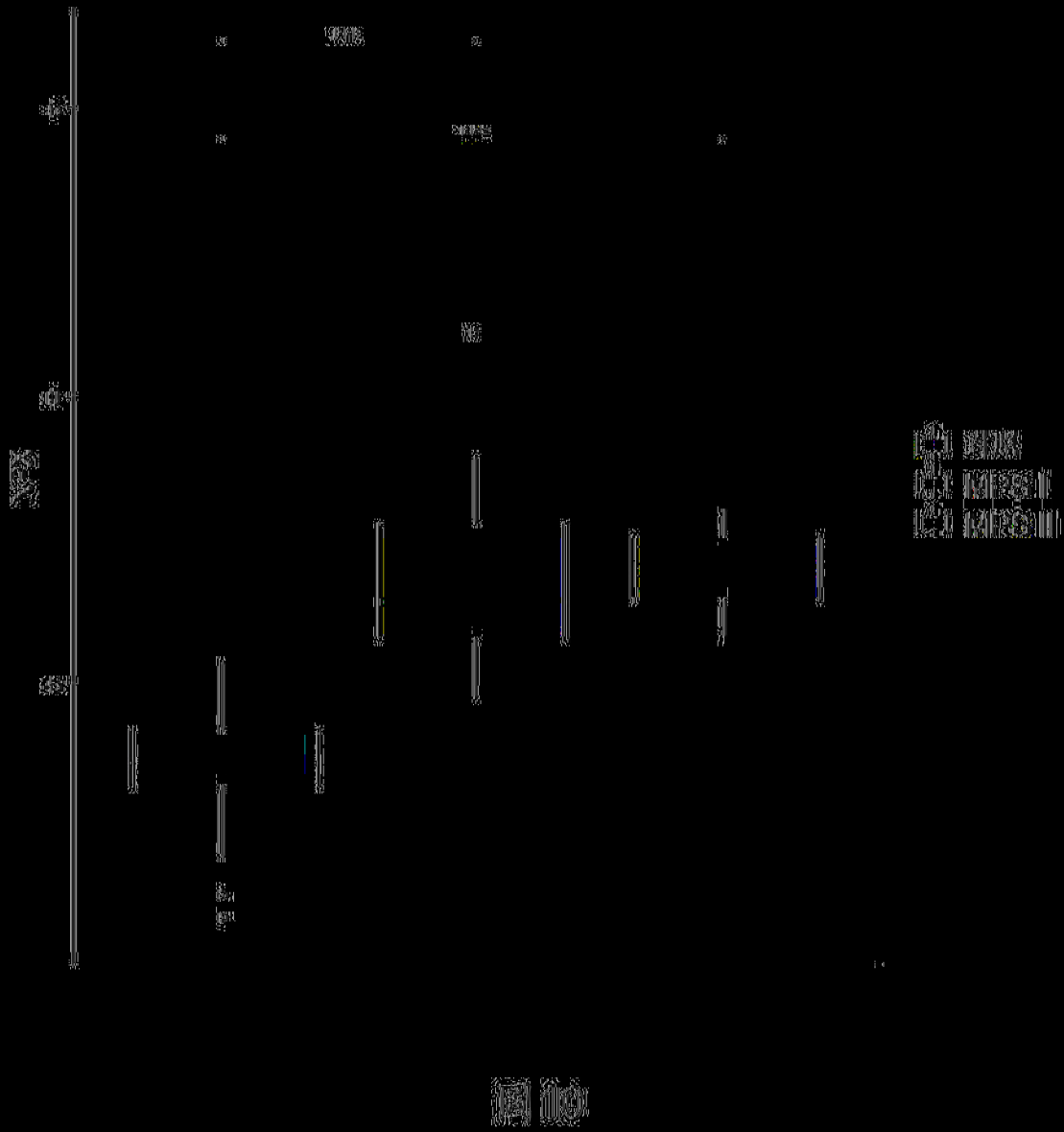


圖 1

圖 2





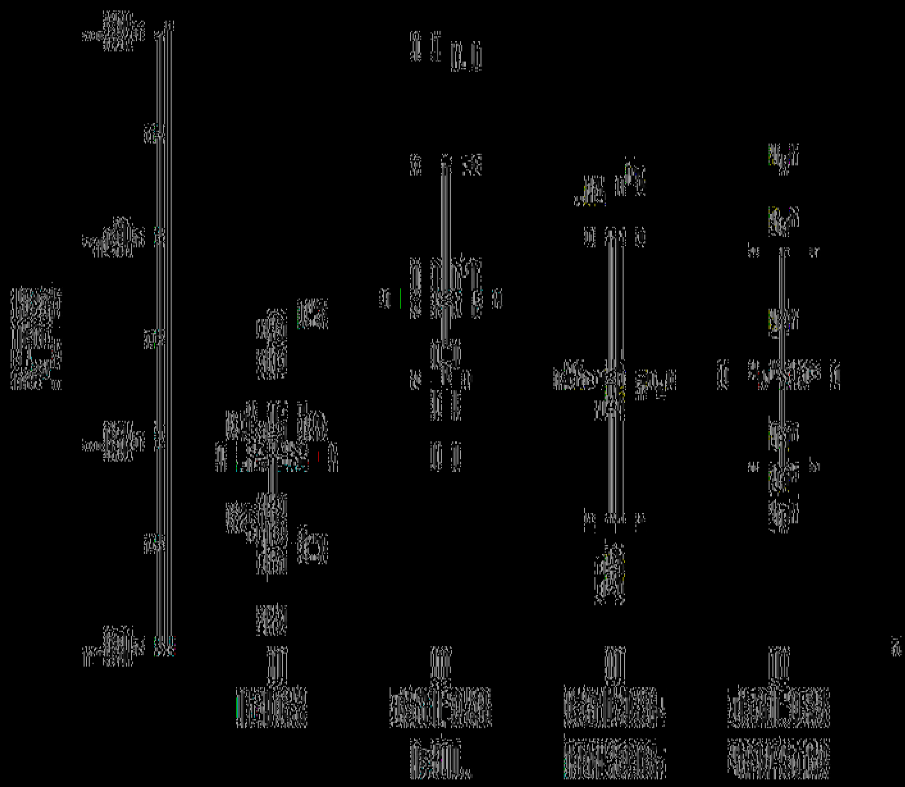


圖 1

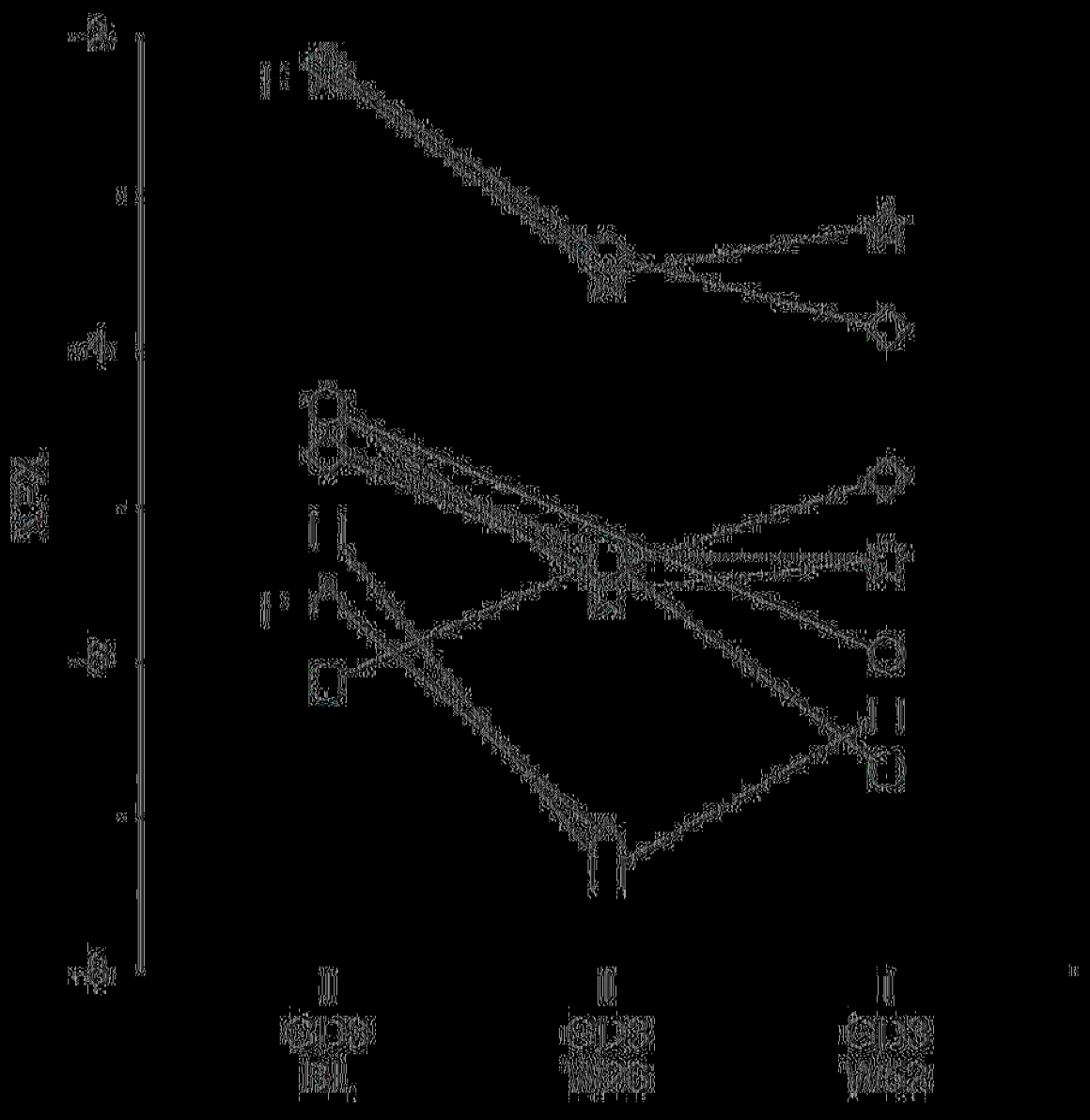


圖 1